

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 6 : C12N 15/12, 15/11, C07K 14/47, 14/65, 16/18, A61K 31/70, 38/17, 38/30, 39/395, G01N 33/68, C07H 21/04		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/32620 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 1. Juli 1999 (01.07.99)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/08405		(81) Bestimmungsstaaten: CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
(22) Internationales Anmeldedatum: 22. Dezember 1998 (22.12.98)		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>	
(30) Prioritätsdaten: 197 57 250.2 22. Dezember 1997 (22.12.97) DE			
(71)(72) Anmelder und Erfinder: FORSSMANN, Wolf-Georg [DE/DE]; Feodor-Lynen-Strasse 31, D-30625 Hannover (DE).			
(72) Erfinder; und			
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): STÄNDKER, Ludger [DE/DE]; Dohmeyers Weg 25, D-30625 Hannover (DE). OBENDORF, Maik [DE/DE]; Feodor-Lynen-Strasse 31, D-30625 Hannover (DE). KLING, Lothar [DE/DE]; Neckarpromenade 34, D-68167 Mannheim (DE). OPITZ, Hans-Georg [DE/DE]; Netztal 46, D-69469 Weinheim (DE). MOSTAFAVI, Hossain [IR/DE]; Feodor-Lynen-Strasse 31, D-30625 Hannover (DE).			
(74) Anwälte: MEYERS, Hans-Wilhelm usw.; Postfach 10 22 41, D-50462 Köln (DE).			

(54) Title: INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR BINDING PROTEIN FRAGMENTS AND THE UTILIZATION THEREOF**(54) Bezeichnung:** INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR BINDING PROTEIN FRAGMENTE UND IHRE VERWENDUNG**(57) Abstract**

The invention relates to peptides which are characterized in that the amino acid sequence parts thereof correspond to the amino acid sequence of insulin-like growth factor binding protein. The invention also relates to cyclic, glycosylated, phosphorylated, acetylated, amidated and/or sulfatized derivatives.

(57) Zusammenfassung

Peptide, dadurch gekennzeichnet, daß ihre Aminosäuresequenz Teilen der Aminosäuresequenz von Insulin-like growth factor binding protein entspricht sowie cyclische, glycosylierte, phosphorylierten, acetylierten, amidierten und/oder sulfatierten Derivate.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AI	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Insulin-like Growth Factor Binding Protein Fragmente und ihre Verwendung

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Peptide mit zellproliferativen und zellprotektiven Eigenschaften, Komplexe der Peptide mit humanem Insulin-like growth factor I und II (IGF) sowie die damit in Verbindung stehenden Nucleinsäuren, Antisensenucleotide, Antikörper und Inhibitoren.

Insulin-like Growth Factor Binding Proteine sind unter anderem von Shimasaki, S. und Ling, N. in Prog. Growth Factor Res. 3 (1991) 243-266 und Zapf, J. in Eur. J. Endocrinol. 132 (1995) 645-654 beschrieben worden.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Peptide, deren Aminosäuresequenz Teilen der Aminosäuresequenz von Insulin-like Growth Factor Binding Proteinen entspricht sowie cyclische, glycosylierte, phosphorylierte, acetylierte, amidierte und/oder sulfatierte Derivate davon. Diese erfindungsgemäßen Peptide werden als IGFBP oder IBP bezeichnet.

Bevorzugte Peptide sind solche, die natürlicherweise vorkommen und beispielsweise aus Hämofiltrat isoliert werden können. Vorzugsweise weisen die Peptide eine Länge von 61 bis 115 Aminosäuren auf. Besonders bevorzugt sind Peptide, die Sequenzen aufweisen, die N- oder C-terminalen Sequenzen von Insulin-like Growth Factor Binding Proteinen entsprechen.

Bevorzugte Peptide sind Peptide mit der Aminosäuresequenz der Formel



worin

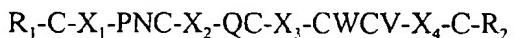
R₁, NH₂, eine Aminosäure oder ein Peptid mit einer Aminosäuresequenz umfassend bis zu 41 Aminosäuren, X₁ ein Peptid mit einer Aminosäuresequenz umfassend 24 bis 31 Aminosäuren,

- 2 -

X₁ ein Peptid mit einer Aminosäuresequenz umfassend 9 Aminosäuren, X₂ ein Peptid mit einer Aminosäuresequenz umfassend 10 Aminosäuren, X₃ ein Peptid mit einer Aminosäuresequenz umfassend 18 bis 24 Aminosäuren, R₂ COOH, CONH₂ oder ein Peptid mit bis zu 12 Aminosäuren darstellt und cyclische, glycosylierte, phosphorylierte, acetylierte, amidierte, sulfatierte Derivate sowie Fragmente mit der physiologischen Fähigkeit des IGFBP.

Das Peptid weist zellproliferative und zellprotektive Eigenschaften auf.

Die erfindungsgemäßen Peptide können Disulfidbrücken aufweisen, so daß sie der allgemeinen Formel



entsprechen.

In einer bevorzugten Ausführungsform weisen die Peptide an einer oder mehrerer der folgenden Positionen der Aminosäuresequenz ein Glycin auf. X₂ an Position 4, X₃ an Position 9, X₄ an Position 4 oder 5 und/oder X₄ an Position 9 oder 10.

Es ist weiter bevorzugt, daß X₁ an der Position 8 L oder V ist und/oder X₁ an der Position 11 L oder I ist und/oder X₂ an der Position 1 D oder N ist und/oder X₂ an der Position 9 K oder R ist und/oder X₃ an der Position 3 S oder A ist und/oder an der Position 8 R oder A ist.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform wird R₁ ausgewählt aus

APSEEDHSILWDAISTYDGSKALHVTNIKKWEP (SEQ ID NO: 1),
GGKHHHLGLEEPKKLRPPPRT (SEQ ID NO: 2),
GKGGKHHHLGLEEPKKLRPPPRT (SEQ ID NO: 3),
GHAKDSQRYKVVDYESQSTDTQNFSSESKRETEYGP (SEQ ID NO: 4),
KVNGAPREDARPVPQGS (SEQ ID NO: 5),
LTQSKFVGAENTAHPRIISAPEMRQESEQGP (SEQ ID NO: 6),
PQAGTARPQDVNRRDQQRNPGTSTTPSQPNSAGVQDTEMP (SEQ ID NO: 7) und/oder
X₁ ausgewählt aus

RIELYRVVESLAKAQETSGEEISKFYL (SEQ ID NO: 8),

- 3 -

QQELDQVLERISTMRLPDERGPLEHLYSLHI (SEQ ID NO: 9),
RREMEDTLNHLKFLNVLSPRGVHI (SEQ ID NO: 10),
QSELHRALERLAASQSRTHEDLYI IPI (SEQ ID NO: 11),
RRHMEASLQELKASPRMVPRAVYL (SEQ ID NO: 12),
RRHLDSDLQQQLQTEVYRGAQTLVY (SEQ ID NO: 13) und/oder

X₂ ausgewählt aus

NKNGFYHSR (SEQ ID NO: 14),
DKHGLYNLK (SEQ ID NO: 15),
DKKGFYKKK (SEQ ID NO: 16),
DRNGNFHPK (SEQ ID NO: 17),
DRKGFYKRK (SEQ ID NO: 18),
DHRGFYRK (SEQ ID NO: 19) und/oder

X₃ ausgewählt aus

ETSMGDGEAGL (SEQ ID NO: 20),
KMSLNGQRGE (SEQ ID NO: 21),
RPSKGRKRGF (SEQ ID NO: 22),
HPALDGQRGK (SEQ ID NO: 23),
KPSRGRKRG (SEQ ID NO: 24),
RSSQGQRRGP (SEQ ID NO: 25) und/oder

x₄ ausgewählt aus

YPWNGKRIPGSPEIRGDPN (SEQ ID NO: 26),
NPNTGKLIQGAPTI RGDPE (SEQ ID NO: 27),
DKYQPLPGYTTKGKEDVH (SEQ ID NO: 28),
DRKTGVKLPGGLEPKGELD (SEQ ID NO: 29),
DKYGMKLPGMEMYVDGDFQ (SEQ ID NO: 30),
DRMGKSLPGSPDGNGSSS (SEQ ID NO: 31) und/oder

R₂ ausgewählt aus

QIYFNQVN (SEQ ID NO: 32),
HLFYNEQQEARGVHTQRMQ (SEQ ID NO: 33),
HLFYNEQQE (SEQ ID NO: 34),
YSMQSK (SEQ ID NO: 35),
HQLADSFRE (SEQ ID NO: 36),
HTFDSSNVE (SEQ ID NO: 37),
PTGSSG (SEQ ID NO: 38).

Bevorzugte Peptide weisen folgende Sequenzen auf

- 4 -

IGFBP-1

APSEEDHSILWDAISTYDGSKALHVTNIKKWKEPCRIELYRVVESLAKAQETSGEEISKFYLP
NCNKNGFYHSRQCETSMGEAGLCWCVYPWNGKRIPGSPEIRGDPNCQIYFNVQN (SEQ ID
NO: 39)

IGFBP-2

GGGGKHHGLEEPKKLRPPPARTPCQQELDQVLERISTMRLPDERGPLEHLYSLHI PNCDKHG
LYNLKQCKMSLNGQRGEWCVCNPNTGKLIQGAPTIRGDPECHLFYNEQQEARGVHTQRMQ
(SEQ ID NO: 40)

GGKHHGLEEPKKLRPPPARTPCQQELDQVLERISTMRLPDERGPLEHLYSLHI PNCDKHG
LYNLKQCKMSLNGQRGEWCVCNPNTGKLIQGAPTIRGDPECHLFYNEQQEARGVHTQRMQ
(SEQ ID NO: 45)

IGFBP-3

GHAKDSQRYKVDYESQSTDTQNFSSSESKRETEYGPCRREMEDTLNHLKFLNVLS PRGVH IPNC
DKKGFYKKQCRPSKGRKRGFCWCVDKYGQPLPGYTTKGKEDVHCYSMQSK (SEQ ID NO:
41)

KVDYESQSTDTQNFSSSESKRETEYGPCRREMEDTLNHLKFLNVLS PRGVH IPNC
DKKGFYKKQCRPSKGRKRGFCWCVDKYGQPLPGYTTKGKEDVHCYSMQSK (SEQ ID NO:
46)

HPLHSKIIIIKKGHAKDSQRY (SEQ ID NO: 47)

IGFBP-4

DEAIHCPPCSEEKLARCRRPGCEELVREPGCGCCATCALGLGMPGCVTPRCGSGLRCYPPR
GVEKPLHTLMHGQGVCMELAEIEAIQESLQPSDKDEGDHPNNSFSPCSAHDRRCLQKHFAKIR
DRSTSGGKM (SEQ ID NO: 48)

KVNGAPREDARPVPQGSCQSELHRALERLAASQSRTHEDLYIIPIPNCDRNGNFHPKQCHPAL
DGQRGKCWCVRKTGVKLPGLEPKGELDCHQLADSRE (SEQ ID NO: 42)

IGFBP-5

LTQSKFVGGAENTAHPRI ISAPEMRQESEQGPCRRHMEASLQELKASPRMVPRAVYLPNCDRK
GFYKRKQCKPSRGRKRGICWCVDKYGMKLPGMEYVDGDFQCHTFDSSNVE (SEQ ID NO:
43)

KFVGGAENTAHPRI ISAPEMRQESEQGPCRRHMEASLQELKASPRMVPRAVYLPNCDRK
GFYKRKQCKPSRGRKRGICWCVDKYGMKLPGMEYVDGDFQCHTFDSSNVE (SEQ ID NO:
49)

HTRISELKAEAVKKDRRKLTQS (SEQ ID NO: 50)

IGFBP-6

PQAGTARPQDVNRRDQQRNPGTSTTPSQPNSAGVQDTEMGPCRRHLDSDLQQLQTEVYRGAQT
LYVPNCDHRGFYRKRCRSSQGQRRGPCWCVRMGKSLPGSPDGNGSSCPTGSSG (SEQ
ID NO: 44)

Die erfindungsgemäßen Peptide lassen sich durch Aufreinigung aus humanem Blutfiltrat oder Urin, durch Festphasenpeptidsynthese oder durch Expression in rekombinannten Mikroorganismen erhalten.

Gegenstand der Erfindung sind weiterhin die Komplexe der erfindungsgemäßen Peptide mit humanem Insulin-like growth factor-I und/oder humanem Insulin-like growth factor-II sowie dessen physiologisch aktiven Fragmenten und/oder Derivaten, insbesondere amidierte, acetylierte, sulfatierte, phosphorylierte und/oder glykosyierte Derivate.

Gegenstand der Erfindung sind darüber hinaus Nucleinsäuren, die für die erfindungsgemäßen Peptide kodieren, Antisensenucleotide, die unter stringenten Bedingungen an eine Nucleinsäure binden, die für das erfindungsgemäße Peptid kodiert, Antikörper, die an die erfindungsgemäßen Peptide binden, Inhibitoren, die die biologische Aktivität der Insulin-like Growth Factor Binding Proteine hemmen, Inhibitoren, die die Expression von Insulin-like Growth Factor Binding Proteinen hemmen.

Die erfindungsgemäßen Peptide, Komplexe, Nucleinsäuren, Antisensenucleotide, Antikörper und Inhibitoren eignen sich insbesondere zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung der Über- oder Unterexpression von Insulin-like Growth Factor Binding Proteine, zur Behandlung von Muskelschwund, Osteoporose, Diabetes, amyloidaler lateraler Sklerose, peripheren und zentralen Neuropathien, entzündlichen Prozessen, gestörten Entzündungsreaktionen, Tumorerkrankungen, entzündlichen und neoplastischen Erkrankungen, Wachstumsstörung, Erkrankung der Muskulatur, Erkrankung des Knochenapparates und/oder zur Wund- und Knochenheilung.

Insbesondere Komplexe von IGFBP mit IGF-I oder IGF-II eignen sich zur Behandlung von Knochenerkrankungen.

Die erfindungsgemäßen Peptide und die Komplexe der Peptide mit Insulin-like growth factor weisen eine zellproliferative Aktivität auf.

- 6 -

Die erfindungsgemäßen Peptide regulieren die Freisetzung des IGF-I und IGF-II aus den Komplexen an ihrem Wirkort. Die Coadministration der erfindungsgemäßen Peptide mit IGF-I oder IGF-II verlängert die biologische Halbwertzeit und damit die Verfügbarkeit der letztgenannten. Die durch Injektion von freiem IGF-I oder IGF-II induzierte Hypoglykämie wird durch die Coadministration der erfindungsgemäßen Peptide verhindert.

Die erfindungsgemäßen Peptide haben desweiteren eine wachstumsfördernde Wirkung auf Knochenzellen und führen zu einer Verstärkung oder Modulation der Wirkung von Wachstumshormonen.

In einer bevorzugten Ausführungsform sind die erfindungsgemäßen Peptide, Komplexe, Nucleinsäuren, Antisensenucleotide, Antikörper und Inhibitoren in einer pharmazeutisch üblichen Darreichungsform in einem Arzneimittel enthalten. Sie eignen sich zur oralen, intravenösen, intramuskulären, intracutanen, intrathekalen Anwendung oder als Aerosol zur transpulmonalen Applikation. Die Menge an zu verabreichenden Peptid beträgt 1 µg bis 1 g pro Darreichungseinheit pro Tag.

Die erfindungsgemäßen Nucleinsäuren und/oder Antisensenucleotide eignen sich auch zur Herstellung eines Medikamentes zur Behandlung somatischer oder nicht-somatischer Generkrankungen.

Das erfindungsgemäße Diagnostikmittel enthält die erfindungsgemäßen Peptide, Komplexe, Nucleinsäuren, Antisensenucleotide, Antikörpern und/oder Inhibitoren.

Bevorzugterweise enthält das Diagnostikmittel poly- oder monoklonale Antikörper gegen das erfindungsgemäße Peptid, wobei die Antikörper fluoreszenz- oder radioaktiv-markiert sein können, um in den bekannten ELISA oder RIA eingesetzt werden zu können. Jedoch kann das Diagnostikmittel auch Nucleinsäuren enthalten, die in modifizierter oder markierter Form in dem Fachmann bekannten Tests wie PCR oder Finger-Printing zum Einsatz kommen.

Die erfindungsgemäßen Diagnostikmittel eignen sich insbesondere zur Diagnose von Funktionsstörungen des Knochens, der Muskeln, des Nervensystems, der Lymphorgane, des Magen-

- 7 -

Darm-Traktes, des Immunsystems, von Diabetes, inflammatorischen und neoplastischen Prozessen sowie als Marker bei Krebs.

Insbesondere das gleichzeitige Auftreten mehrerer Fragmente von BP-4 oder BP-5 im Plasma, insbesondere der N- und C-terminalen Domänen eignet sich als Marker für Erkrankungen des Knochenstoffwechsels. Die entsprechenden Peptide können entweder massenspektroskopisch nachgewiesen oder, bevorzugt durch Immunreaktion mit entsprechenden Antikörpern.

Figur 1 zeigt ein Alignment der Konsensussequenzen von C-terminalen Fragmenten der Insulin-like Growth Factor Proteine.

Figur 2 zeigt die schematische Struktur der Insulin-like Growth Factor Proteine mit den cysteinreichen N- und C-terminalen Domänen.

Figur 3 zeigt die schematische Struktur der Insulin-like Growth Factor Proteine sowie die Sequenz der aus Hämofiltrat isolierten biologisch aktiven Fragmente.

Figur 4 zeigt die Isolierung des osteoanabolen Faktors IGFBP-4-11 aus humanem Hämofiltrat (siehe Beispiel 3).

Figur 5 zeigt die Sequenz- und Schwefelbrückenanalyse des osteoanabolen Faktors IGFBP-4-11. Die Cysteine 153-183, 194-205 und 207-228 sind verbrückt.

Figur 6 zeigt die biologische Wirkung des osteoanabolen Faktors IGFBP-4-11. Nach einer Inkubation von serumfrei gehaltenen primären Rattenosteoblasten für (A) 24 Stunden, (B) 48 Stunden und (C) 72 Stunden mit IGFBP-4-11 zeigt sich die proliferationsfördernde Wirkung des IGFBP-4-11. In dosisabhängiger Weise wird ein Anstieg der DNA-Syntheserate gefunden, gemessen als Einbau von Bromodesoxyuridin (BrdU).

Figur 7 zeigt die spezifische Bindung an Osteoblasten und den möglichen Rezeptor für den osteoanabolen Faktor IGFBP-4-11 (als IGFBP-4¹³⁶⁻²³⁷ bezeichnet). A: Radioaktiv markiertes IGFBP-4-11 zeigt eine durch steigende Mengen an nicht-markiertem IGFBP-4-11 verdrängbare spezifische Bindung an primäre Osteoblastenzellen. B: Radioaktiv markiertes IGFBP-4-11 konnte, nachdem es an Osteoblasten gebunden hat, chemisch mit seinem putativen Rezeptormolekül vernetzt werden und anschließend durch Gelektrophorese und nachfolgende Autora-

- 8 -

diographie nachgewiesen werden. Der Ligand-Rezeptor-Komplex hat ein Molekulargewicht von etwa 120 kDa. Die Bildung des Komplexes wird begünstigt durch Saponin, einen Membranporenbildner. Die Komplexbildung wird verhindert durch Zusatz eines Überschusses an nicht-markiertem IGFBP-4-11 zum Inkubationsansatz.

Die Aufreinigung des erfindungsgemäßen Peptids bzw. seine Komplexe wird durch die nachfolgenden Beispiele erläutert:

Beispiel 1

Aufreinigung und peptidchemische Analyse des IGFBP-2-13

Die erfindungsgemäßen Peptide sind durch ein Reinigungsverfahren ausgehend vom humanem Hämofiltrat erhältlich. Dieses patentierte Verfahren (Forssmann, W.-G. (1988), Offenlegungsschrift DE 36 33 707 A1), welches für die Gewinnung von Eiweißstoffen aus Hämofiltrat entwickelt wurde, wurde in modifizierter Form auch zur Aufreinigung des Peptidkomplexes eingesetzt.

Hämofiltrat-Batch-Extraktion

Hämofiltrat fällt bei der Ultrafiltration des Blutes von Nierenkranken in großen Mengen an. 800 bis 1.000 l Hämofiltrat werden mit HCl auf einen pH-Wert von 2,7 eingestellt und mit Wasser auf eine Leitfähigkeit von 5,5 mS/cm verdünnt und mit einer Flußrate von 3 l/min auf einen starken Kationenaustauscher aufgetragen.

Chromatographiebedingungen:

Säule:	Vantage VA 250 (Amicon, Witten)
Säulenmaterial:	Fractogel TSK SP 650 (M), 25 cm x 20 cm
Fluß:	3 l/min
Detektion:	280 nm, pH, Leitfähigkeit
Puffer A:	Hämofiltrat pH 2,7, Leitfähigkeit 5,5 mS/cm
Puffer B:	0,5 M Ammoniumacetat
Anlage:	Autopilot Chromatographiesystem, (PerSeptive Biosystems, Wiesbaden)

Nach Auftragung der insgesamt 1.000 l Flüssigkeit über Nacht wird mit mehreren Säulenvolumina 5 mM HCl gespült. Die Elution der gebundenen Peptide erfolgt als Batch-Elution mit 0,5

- 9 -

M Ammoniumacetat. Hierbei wird eine komplette Elution der Peptide über steigenden pH-Wert (6,8 bis 7,2) und steigende Leitfähigkeit (56 mS/cm) in etwa 5 l Eluat erreicht.

Erste préparative Auftrennung

Die Ammoniumacetat-Eluate der Batch-Extraktion werden in Mengen von 5.000 bis 10.000 l Hämofiltrat-Peptid vereinigt. Nach pH-Einstellung auf 2,7 wird das Peptidextrakt unter Zumischung von VE-Wasser mit einer Leitfähigkeit von 5,5 mS/cm auf den préparativen Kationenaustauscher aufgetragen.

Chromatographiebedingungen:

Säule: Vantage 250 VA
 Säulenmaterial: Fractogel TSK SP 650 (M), 25 cm x 20 cm
 Fluß: bis zu 3 l/min während des Auftrages,
 0,5 bis 1 l während der Elution
 Detektion: 280 nm, pH, Leitfähigkeit
 Probe: Hämofiltrat pH 2,7, Leitfähigkeit 5,5 mS/cm
 Anlage: Autopilot Chromatographiesystem,
 (PerSeptive Biosystems, Wiesbaden)

Nach Auftrag des Rohextraktes über 240 min wird die Säule mit 0,01 M HCl gespült, bis die Leitfähigkeit unter 1 mS/cm ist. Die Elution erfolgt dabei in mehreren Stufen mit den im folgenden angegebenen Puffern

Puffer	pH-Wert	Puffersubstanzen	Leitfähigkeit (mS/cm)
Waschpuffer	2,0	0,01 M HCl	1
Elutionspuffer 1:	3,6	0,1 M Zitronensäure-1-hydrat	2,9
Elutionspuffer 2:	4,5	0,1 M Essigsäure + 0,1 M Natriumacetat	4,0
Elutionspuffer 3:	5,0	0,1 M Äpfelsäure	6,2
Elutionspuffer 4:	5,6	0,1 M Bernsteinsäure	6,1
Elutionspuffer 5:	6,6	0,1 M NaH ₂ PO ₄	4,9
Elutionspuffer 6:	7,4	0,1 M NaH ₂ PO ₄	6,7
Elutionspuffer 7:	9,0	0,1 M Ammoniumcarbonat	6,7

Die Eluate 1-7 werden als pH-Pool I-VII bezeichnet. Sie werden separat gesammelt und abschließend mit VE-Wasser gespült. Die Elution erfolgt bis zum Erreichen einer neuen Basisli-

- 10 -

nie, wobei für die einzelnen pH-Pools I bis VII Elutionsvolumina von 10 bis 25 l erreicht werden.

Zweite préparative Auftrennung:

Die einzelnen pH-Pools werden zur Fraktionierung und gleichzeitigen Entsalzung über eine Reverse Phase Chromatographie getrennt

Chromatographiebedingungen:

Säule:	FineLine 100 (Pharmacia, Freiburg)
Säulenmaterial:	Source RPC, 15 µm 10 x 12,5 cm (FineLine 100)
Fluß:	150 mL/min (FineLine 100)
Detektion:	280 nm, Leitfähigkeit, pH
Puffer A:	10 mM HCl
Puffer B:	80% Acetonitril in 10 mM HCl
Gradient:	0 bis 60% Puffer B in 5 Säulenvolumen

Nach Auftrag der pH-Pools wird die Säule mit Puffer A gespült. Während der Elution werden Fraktionen zu 200 ml gesammelt. Aliquots der Fraktionen werden im Bioassay getestet. Die Fraktionen werden gefriergetrocknet und bei -20EC gelagert.

Semipräparative Reverse-Phase C18-Chromatographie:

Die im Assay bioaktiven Fraktionen 11 und 12 aus pH-Pool V wurden über eine semipräparative Reverse-Phase Säule aufgetrennt. Dic Fraktionen 21 bis 25 enthielten die erfindungsgemäße Substanz.

Chromatographiebedingungen:

Säule:	4,7 cm x 30 cm Stahlsäule
Füllmaterial:	Vydac RP-C18 15-20 µm, 300 Å
Puffer A:	0,1% TFA
Puffer B:	0,1% TFA, 80% Acetonitril
Gradient:	5 bis 50% B in 45 min, 50 bis 100% B in 10 min
Fluß:	42 mL/min
Detektion:	214 nm und 280 nm
Chromatographieanlage:	BioCad
Fraktionen:	à 1,5 min ab Start des Gradienten

Semipräparative Reverse-Phase C18-Chromatographie:

- 11 -

Die bioaktiven Fraktionen 21 bis 25 aus der vorhergehenden Chromatographie wurden über die gleiche semipräparative Reverse Phase Säule aufgetrennt. Als Laufmittel wurde jedoch Methanol verwendet. Die Fraktion 24 enthielt die erfundungsgemäße Substanz.

Chromatographiebedingungen:

Säule: 4,7 cm x 30 cm Stahlsäule
Füllmaterial: Vydac RP-C18 15-20 µm, 300 Å
Puffer A: 0,1% TFA, 20% Methanol
Puffer B: 0,1% TFA, 100% Methanol
Gradient: 0 bis 20% B in 6,5 min, 20 bis 80% B in 55 min,
80 bis 100% B in 13 min
Fluß: 30 ml/min
Detektion: 214 nm und 280 nm
Chromatographieanlage: BioCad
Fraktionen: á 1,5 min ab Start des Gradienten

- 12 -

Kationenaustauschchromatographie:

Die bioaktiven Fraktionen 19 und 20 aus der vorhergehenden Chromatographie wurden über eine Kationenaustauscher-Säule aufgetrennt. Die Fraktionen 45 bis 47 enthielten die erfindungsgemäße Substanz.

Chromatographiebedingungen:

Säule:	1 cm x 5 cm Stahlsäule
Füllmaterial:	Pepkat, Biotek 5 µm, 300 Å
Puffer A:	20 mM Natriumphosphat, pH 3,0
Puffer B:	20 mM Natriumphosphat, pH 3,0, 1,5 M NaCl
Gradient:	0 bis 50% B in 50 min, 50 bis 100% B in 10 min
Fluß:	3 ml/min
Detektion:	280 nm
Chromatographieanlage:	BioCad Sprint
Fraktionen:	á 1,5 min ab Start des Gradienten

Analytische Reverse-Phase Chromatographie:

Die bioaktiven Fraktionen 45 bis 47 aus der vorhergehenden Chromatographie wurden sukzessive in mehreren identischen Läufen über eine Reverse Phase - Säule aufgetrennt. Die Fraktion 56 enthielt die erfindungsgemäße Substanz.

Chromatographiebedingungen:

Säule:	1 cm x 25 cm Stahlsäule
Füllmaterial:	Vydac RP-C18 5 µm, 300 Å
Puffer A:	0,1% TFA
Puffer B:	0,1% TFA, 80% Acetonitril
Gradient:	5 bis 50% B in 45 min, 50 bis 100% B in 10 min
Fluß:	2 ml/min
Detektion:	220 nm
Chromatographieanlage:	Kontron
Fraktionen:	á 1 min ab Start des Gradienten

- 13 -

Zweite Analytische Reverse-Phase C18-Chromatographie:

Die bioaktive Fraktion 56 aus dem vorhergehenden Trennschritt wurde auf einer analytischen Reverse-Phase Säule weiter aufgereinigt.

Chromatographiebedingungen:

Säule: 0,46 cm x 25 cm Stahlsäule
Füllmaterial: YMC RP-C18, 5 µm, 300 Å
Puffer A: 0,1% TFA
Puffer B: 0,1% TFA, 80% Acetonitril
Gradient: 15 bis 50% B in 75 min, 75 bis 100% B in 10 min
Fluß: 0,7 ml/min
Detektion: 214 nm
Chromatographieanlage: Kontron

Dritte Analytische Reverse-Phase C3-Chromatographie:

Ein Teil der bioaktiven Fraktion 45 aus dem vorhergehenden Trennschritt wurde direkt der Massen- und Sequenzanalyse unterzogen. Ein anderer Teil wurde reduziert und alkyliert (wie unter Beispiel 2 beschrieben) und dann auf einer analytischen Reverse-Phase Säule weiter aufgereinigt.

Chromatographiebedingungen:

Säule: 0,1 cm x 15 cm Stahlsäule
Füllmaterial: Zorbax RP-C3, 5 µm, 300 Å Analytik verwandt wird, deutlich.

Massenbestimmungen

Alle Massenbestimmungen der unmodifizierten und modifizierten Peptide wurden auf einem MALDI-TOF Massenspektrometer durchgeführt. Die Molekülmassen der Peptide wurden als

IGF-II, 7471 Da;

IGFBP-2, 12 681 Da;

IGFBP-2, 12 865 Da

bestimmt.

Bestimmung von Cysteinen/Modifizierung von Peptiden

- 14 -

Cysteine lassen sich nach vorheriger chemischer Derivatisierung, zum Beispiel nach Reduktion mit β -Mercaptoethanol und Carboxamidomethylierung mit Iodacetamid, in der Peptid-Sequenzierung nachweisen. Nach der Derivatisierung schließt sich eine Entsalzung vorzugsweise über eine analytische Reverse-Phase Chromatographie mit einer Vydac RP-C18 Säule (4,6 mm x 25 cm) an. Ein Teil der so modifizierten Peptide werden der Sequenzanalyse zugeführt, mit dem anderen Teil ergeben die Massenbestimmungen ein entsprechendes Molekulargewicht. Aus der Massendifferenz zum nativen Peptid wird geschlossen, daß die Peptide aus Hämofiltrat sechs Cysteine enthalten, welche zudem mit drei Disulfidbrücken untereinander verbunden sind.

Sequenzbestimmung

Sowohl die aufgereinigten nativen als auch die carboxamidomethylierten Peptide werden mittels Edman-Abbau auf einem ABI 473 A Sequenzer unter Verwendung des Standard-Programms analysiert.

Die Proben werden auf eine Polybrene-Membran in Mengen zwischen 100 und 400 pmol aufgetragen. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Massenbestimmungen ergaben sich folgende N-terminale Sequenzen:

IGFBP-2-13, MW 12681

(reduziertes und mit Jodacetamid modifiziertes Molekül, MW 13045)

Aminosäuren

GGKHHLGLEEPKKLRPPPAPTPCQQELDQV...

IGFBP-2-13, MW 12865

(reduziertes und mit Jodacetamid modifiziertes Molekül, MW 13223)

Aminosäuren

GKGGKHHLGLEEPKKLRPPPAPTPCQQELDQV...

IGF-II, MW 7471

Aminosäuren

AYRPSETLCGGEL....

- 15 -

Der C-Terminus wurde durch den Vergleich der gemessenen Molekularmasse mit der aus der Sequenz berechneten Masse bestimmt. Die Übereinstimmung dieser Massen liegt in der Meßgenauigkeit des MALDI-TOF-Massenspektrometers von 0,1% der Gesamtmasse.

Datenbankvergleich

Ein Datenbankvergleich wurde mit Hilfe des HUSAR-Programmpakets an den SwissProt und EMBL-Nucleinsäure Datenbanken durchgeführt. Die Peptidsequenzen besitzt eine hundertprozentige Identität zu den aus der cDNA abgeleiteten Aminosäuren des humanen IGFBP-2 bzw. zur Aminosäuresequenz von IGF-II.

IGFBP-2 wurde bisher als ein 34 kD großes Bindungsprotein beschrieben, dessen vollständige Sequenzanalyse durch Analyse der zugehörigen cDNA (Binkert, C. et al., EMBO Journal Vol. 8 (1989), Seiten 2497 bis 2502) erfolgte. IGF-II und auch IGF-I, welches ebenfalls an IGFBP-2 bindet, wurden dagegen in ihrer Struktur auf Protein- und DNA-Sequenzebene schon umfangreich beschrieben (als Review: Rechler, M.M., & Nissley, S.P. (1990) Insulin-like growth factors In: Peptide growth factors and their receptors (Spori, M.B., Roberts, A.B. eds.), Seiten 263 bis 367, Springer-Verlag, Berlin).

Beispiel 2

Bestimmung der biologischen Aktivität des IGF/IGFBP-2-13

Die Isolierung des IGF/IGFBP-2-13 erfolgte anhand seiner biologischen Aktivität in einem Überlebensassay der PC-12 (Pheochromocytom-Zellen)-Zelllinie. Dazu wurden jeweils Aliquots der unter Beispiel 1 beschriebenen einzelnen Chromatographicstufen gefriergetrocknet und anschließend dem biologischen Assay zugeführt. Die Fraktionen, die jeweils ein positives Signal ergaben, wurden der weiteren Aufreinigung unterzogen.

Der Assay mißt das Überleben der Zellen, nachdem sie serumfrei gehalten wurden, indem 24 Stunden nach Serumzug die Aktivität mitochondrialer Enzyme bestimmt wird. Als Positiv-Kontrolle wird in diesem Assay Nervenwachstumsfaktor (NGF) oder fötales Kälberserum (FCS) eingesetzt.

- 16 -

In 96 Loch-Platten werden 10.000 PC-12 Zellen pro Loch in serumfreien Medium ausgesät. Es erfolgt die Zugabe von Aliquots (ca. 100 ml Äquivalent des Ausgangsmaterials) in die wells. 20 Stunden später wird die Überlebensrate der Zellen mittels eines Wst-1 Substrats gemessen. Dieses Substrat wird von mitochondrialen Enzymen umgesetzt. Die entstehende Farbstoffintensität wird bei 405 nm im ELISA- Reader gemessen, die Referenzwellenlänge liegt dabei bei über 600 nm.

Der IGF/IGFBP-2-13 Komplex besitzt in dosisabhängigerweise eine überlebensförderende Wirkung auf PC-12 Zellen. Diese Zellen entsprechen neuronalen Vorläuferzellen, so daß man davon ausgehen kann, das IGF/IGFBP-2-13 ein neuroprotektiver Faktor ist.

Beispiel 3

Aufreinigung des erfindungsgemäßen Peptids IGFBP-4-11

Die Aufreinigung des erfindungsgemäßen Peptid IGFBP-4-11 erfolgte bis zur Stufe der zweiten präparativen Auf trennung völlig analog zu der unter Beispiel 1 beschriebenen Aufreinigung des IGFBP-2-13. Die weitere Aufreinigung erfolgte durch

Analytische Reverse-Phase C18-Chromatographie:

Die im Assay bioaktive Fraktion 33 aus pH-Pool IV wurden über eine analytische Reverse-Phase-Säule aufgetrennt. Die Fraktion 34 enthielt die erfindungsgemäße Substanz.

Chromatographiebedingungen:

Säule:	1 cm x 25 cm Stahlsäule
Füllmaterial:	Vydac RP-C4 5 µm, 300 Å
Puffer A:	0,1% TFA
Puffer B:	0,1% TFA, 80% Acetonitril
Gradient:	0 - 80% B in 80 min, 80 - 100% B in 10 min
Fluß:	2,5 ml/min
Detektion:	230 nm
Chromatographieanlage:	Kontron
Fraktionen:	à 1 min ab Start des Gradienten

Massenbestimmungen

- 17 -

Die Massenbestimmungen wurden auf einem Elektrospray-Massenspektrometer durchgeführt.

Die Molekülmasse des Peptids wurde als

IGFBP-4-11, 11 344 Da

bestimmt.

Sequenzbestimmung

Die Aminosäuresequenz des aufgereinigten, nativen, biologisch aktiven Peptids IGFBP-4-11 wurde wie unter Beispiel 1 auf der Seite 13 beschrieben durchgeführt.

Es ergab sich die folgende N-terminale Sequenz:

IGFBP-4-11, MW 11344 Da

KVNGAPREDARPVPQGSXQSELIRALERL...

Der C-Terminus wurde durch den Vergleich der gemessenen Molekularmasse mit der aus der Sequenz berechneten Masse bestimmt. Die Übereinstimmung dieser Massen liegt in der Messgenauigkeit des Elektrospray-Massenspektrometers von 0,1% der Gesamtmasse.

Datenbankvergleich

Ein Datenbankvergleich wurde mit Hilfe des HUSAR-Programmpakets an den SwissProt und EMBL-Nucleinsäuredatenbanken durchgeführt. Die Peptidsequenz besitzt eine hundertprozentige Identität zu den aus der cDNA abgeleiteten Aminosäuren des humanen IGFBP-4.

Bestimmung der Schwefelbrückenverknüpfung des IGFBP-4-11

Die Analyse der Schwefelbrückenverknüpfung erfolgte, indem das native Peptid IGFBP-4-11 parallel in zwei verschiedenen Ansätzen mit den Endoproteasen Chymotrypsin und Arg-C gespalten wurde. Die erhaltenen Spaltfragmente wurden dann mittels analytischer Reverse Phase Chromatographie voneinander getrennt und der Molekularmassen- und Sequenzanalyse unterzogen. Folgende Fragmente, welche jeweils zwei Cysteine und eine Schwefelbrücke enthalten, wurden erhalten:

- 18 -

HPKQCHPALDGQRGKCW, MW 1960

CVDRKTGVKLPGGLEPKGELDCHQLADSF, MW 3112

PVPQGSCQSELHR

MW 3236

THEDLYIIPIPNCDR

Daraus ist ersichtlich, daß im nativen IGFBP-4-11 die Schwefelbrücken zwischen Cystein 1 und 2, zwischen Cystein 3 und 4 sowie zwischen Cystein 5 und 6 ausgebildet sind.

Beispiel 4

Bestimmung der biologischen Aktivität des IGFBP-4-11

Die Isolierung des IGFBP-4-11 erfolgte anhand seiner biologischen Aktivität in einem Proliferationsassay mit primären Knochenzellen (Osteoblasten), die zunächst aus Schädeldecken von Rattenembryonen isoliert werden

Dazu wurden jeweils Aliquots der unter Beispiel 3 beschriebenen einzelnen Chromatographiestufen gefriergetrocknet und anschließend dem biologischen Assay zugeführt. Die Fraktionen, die jeweils ein positives Signal ergaben, wurden der weiteren Aufreinigung unterzogen. Der Assay mißt die Proliferation der Zellen, indem 48 oder 72 Stunden nach Zugabe der Fraktionen der Einbau von radioaktivem Thymidin, also die DNA-Syntheserate, bestimmt wird. Als Positiv-Kontrolle wird in diesem Assay Transforming Growth Factor-beta (TGF-beta) oder fötales Kälberserum (FCS) eingesetzt. In 96 Loch-Platten werden 5.000 Osteoblasten-Zellen pro Loch in serumhaltigem Medium ausgesät. Es erfolgt die Zugabe von Aliquots (ca. 100 µl Äquivalent des Ausgangsmaterials) in die wells. 48 oder 72 Stunden später wird die Proliferationsrate (DNA-Syntheserate) der Zellen mittels der Zugabe und des Einbaus von radioaktivem Thymidins gemessen. Das Peptid IGFBP-4-11 besitzt in dosisabhängigerweise eine proliferationsförderende Wirkung auf diese primären Osteoblasten. Diese Zellen entsprechen typischen Knochenzellen, so daß man davon ausgehen kann, das IGFBP-4-11 ein osteoanaboler Faktor ist.

- 19 -

Beispiel 5

Isolierung der C-terminalen Domäne des IGFBP-3

Durch ein ähnliches Verfahren wie in den Beispielen 1 und 3 konnte aus Hämofiltrat ein Peptid isoliert werden mit einer Masse von 2.470 Dalton (MALDI:2481 Dalton) mit der Sequenz:

HTRISELKAEAVKKDRRKLTQS (?)

wodurch sich als IGFBP-3 C-terminale Sequenz folgende Sequenz ergibt:

KVDYESQSTDTQNFSSESKRTEYGPCRREMEDTLNHLKFLNVLSRGVHIPNC
DKKGFYKKQCRPSKGRKRGFCWCVDKYGQPLPGYTTKGKEDVHCYSMQSK

Beispiel 6

Durch ein ähnliches Verfahren wie in den Beispielen 1 und 3 konnte die N-terminale Domäne des IGFBP-4 mit der Sequenz

DEAIHCPPCSEEKLARCRPPVGCEELVREPGCGCCATCALGLGMPGCVTPRCGSGL
RCYPPRGVEKPLHTLMHGQGVCMELAEIEAIQESLQPSDKDEGDHPNNFSPCSAHD
RRCLQKHFAKIRDRTSGGKM

- 20 -

Beispiel 7

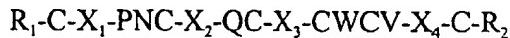
Bestimmung der C-terminalen Sequenz des IPB-5 durch ein Verfahren wie in den Beispielen 1 und 3 konnte ein Peptid mit einer Masse von 13,5 kD bestimmt werden. Die Sequenzbestimmung ergab folgende Sequenz:

KFVGGAEATAHPRIISAPEMRQESEQGPCRRHMEASLQELKASPRMVPRAVYLPNCD
RKGFYKRKQCKPSRGRKRGICWCVDKYGMKLPGMEYVDGDFQCHTFDSSNVE

Die theoretische Masse beträgt 12,5 kD, daher ist davon auszugehen, daß das Peptid an Serin oder Threonin glykosyliert ist.

Patentansprüche

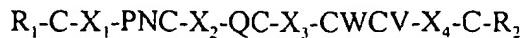
1. Peptide, dadurch gekennzeichnet, daß ihre Aminosäuresequenz Teilen der Aminosäuresequenz von Insulin-like growth factor binding protein entspricht sowie cyclische, glycosylierte, phosphorylierten, acetylierten, amidierten und/oder sulfatierten Derivate.
2. Peptide nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Peptide aus Hämofiltrat isoliert werden können.
3. Peptide nach einem der Ansprüche 1 und/oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Peptide eine Länge von 61 bis 115 Aminosäuren aufweisen.
4. Peptide nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Peptide Sequenzen aufweisen, die N- oder C-terminalen Sequenzen von Insulin-like growth factor binding protein entsprechen.
5. Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4 mit einer Aminosäuresequenz der Formel



worin

R_1 NH₂, eine Aminosäure oder ein Peptid mit einer Aminosäuresequenz umfassend bis zu 41 Aminosäuren, X_1 ein Peptid mit einer Aminosäuresequenz umfassend 24 bis 31 Aminosäuren, X_2 ein Peptid mit einer Aminosäuresequenz umfassend 9 Aminosäuren, X_3 ein Peptid mit einer Aminosäuresequenz umfassend 10 Aminosäuren, X_4 ein Peptid mit einer Aminosäuresequenz umfassend 18 bis 24 Aminosäuren, R_2 COOH, CONH₂ oder ein Peptid mit bis zu 12 Aminosäuren darstellt und cyclische, glycosylierte, phosphorylierte, acetylierte, amidierte, sulfatierte Derivate sowie Fragmente mit der physiologischen Fähigkeit des IGFBP.

6. Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 5 mit Disulfidbrücken der Formel



7. Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß X₂ an Position 4 seiner Aminosäuresequenz ein Glycin aufweist und/oder X₃ an der Position 9 seiner Aminosäuresequenz ein Glycin aufweist und/oder X₄ an der Position 4 oder 5 seiner Aminosäuresequenz ein Glycin aufweist und/oder X₄ an der Position 9 oder 10 seiner Aminosäuresequenz ein Glycin aufweist.
8. Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß X₁ an der Position 8 oder V ist und/oder X₁ an der Position 11 oder I ist und/oder X₂ an der Position 1 D oder N ist und/oder X₂ an der Position 9 K oder R ist und/oder X₃ an der Position 3 S oder A ist und/oder an der Position 8 R oder A ist.
9. Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß R₁ ausgewählt wird aus

APSEEDHSILWDAISTYDGSKALHVTNIKKWKEP,
GGKHHLGLEEPKKLRPPPARTP
GKGGKHHLGLEEPKKLRPPPARTP,
GHAKDSQRYKVVDYESQSTDQTQNFSSESKRTEYGP,
KVNGAPREDARPVPQGS,
LTQSFKVCGAENTAHPRIISAPEMRQESEQGP,
PQAGTARPQDVNRDQQRNPGTSTTPSQPNSAGVQDTEMGP.

10. Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß X₁ ausgewählt wird aus
- RIELYRVVESLAKAQETSGEEISKFYL,
QQELDQVLERISTMRLPDERGPLEHLYSLHI,
RREMEDTLNHLKFLNVLSPRGVHI,
QSELHRALERLAASQSRTHEDELYIPI,
RRHMEASLQELKASPRMVPRAVYL,
RRHLDSDLQQLQTEVYRGAQTLYV.
11. Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß X₂ ausgewählt wird aus
- NKNGFYHSR,
DKHGLYNLK,
DKKGFYKKK,
DRNGNFHPK,
DRKGFYKRK,

DHRGFYRKR.

12. Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß X₃ ausgewählt wird aus

ETSMGEAGL,
KMSLNGQRGE,
RPSKGRKRGF,
HPALDGQRGK,
KPSRGRKRGFI,
RSSQGQRRGP.

13. Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß X₄ ausgewählt wird aus

YPWNGKRIPGSPEIRGDPN,
NPNTGKLOQQGAPTIRGDPE,
DKYQQPI.PGYTTKGKEDVH,
DRKTGVKLPGGLEPKGELD,
DKYGMKLPGMEYVDGDFQ,
DRMGKSLPGSPDGNGSSS.

14. Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß R₂ ausgewählt wird aus

QIYFNVQN,
HLFYNEQQEARGVHTQRMQ,
HLFYNEQQE,
YSMQSK,
HQLADSFRE,
HTFDSSNVE,
PTGSSG.

15. Peptide gemäß einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Peptide ausgewählt werden aus

IBP-1

APSEEDHSILWDAISTYDGSKALHVTNIKKWKEPCRIELYRVVESLAKAQETS
GEEISKFYLPNCNKNGFYHSRQCETSMGEAGLCWCVYPWNGKRIPGSPEIRG
DPNCQIYFNVQN

IGFBP-2

GKGGKHHLGLEEPKKLRPPPAPTPCQQELDQVLERISTMRLPDERGPLEHLYS
 LHIPNCDKHGLYNLKQCKMSLNGQRGEWCVNPNNTGKLIQGAPTRGDPECH
 LFYNEQQEARGVHTQRMQ

GGKHHLGLEEPKKLRPPPAPTPCQQELDQVLERISTMRLPDERGPLEHLYSLH
 IPNCDKHGLYNLKQCKMSLNGQRGEWCVNPNNTGKLIQGAPTRGDPECHLF
 YNEQQEARGVHTQRMQ

IGFBP-3

GHAKDSQRYKVYESQSTDTQNFSSSESKRETEYGPCRREMEDTLNLKFLNV
 LSPRGVHIPNCDKKGFYKKQCRPSKGRKRGFCWCVDKYGQPLPGYTTKGK
 EDVHCYSMQSK

KVDYESQSTDTQNFSSSESKRETEYGPCRREMEDTLNLKFLNVLSRGV
 HIPNCDKKGFYKKQCRPSKGRKRGFCWCVDKYGQPLPGYTTKGKEDVHCY
 SMQSK

HPLHSKIIKKGHAKDSQRY

IGFBP-4

DEAIHCPPCSEEKLARCRPPVGCEELVREPGCGCCATCALGLGMPGCVYTPRC
 GSGLCYPPRGVEKPLHTLMHGQGVMELAEIAIQESLQPSDKDEGDHPNNS
 FSPCSAHDRRCLQKHFAKIRDRTSGGKM

KVNGAPREDARPVPQGSCQSELHRALERLAASQSRTHEDLYIIPNCDRNGNF
 HPKQCHPALDGQRGKCWCVDRTGVKLPGLEPKGELDCHQLADSRE

IGFBP-5

LTQSKFVGAENTAHPRIISAPEMRQESEQGPCRRHMEASLQELKASPRMVPR
 AVYLPNCDRKGFYKRKQCKPSRGRKRGICWCVDKYGMKLPGMEYVDGDFQ
 CHTFDSSNVE

KFVGAENTAHPRIISAPEMRQESEQGPCRRHMEASLQELKASPRMVPRAV
 YLPNCDRKGFYKRKQCKPSRGRKRGICWCVDKYGMKLPGMEYVDGDFQCH
 TFDSSNVE

HTRISELKAEAVKKDRRKLTQS

IGFBP-6

PQAGTARPQDVNRDQQRNPGBTTPSQPNSAGVQDTEMGPCRRHLDSDLQQ
 LQTEVYRGAQTIYVPNCDHRGFYRKQRQCRSSQGQRRGPCWCVRMGKSLPG
 SPDGNNGSSCPTGSSG

16. Verfahren zur Herstellung der Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 15 durch Aufreinigung aus humanem Blutfiltrat oder Urin, durch Festphasenpeptid-synthese oder durch Expression in rekombinanten Mikroorganismen.

17. Komplexe von Peptiden gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 15 mit hIGF-I (humaner Insulin-like growth factor-I, MW 7649) oder hIGF-II (humaner Insulin-like growth factor-II, MW 7491) sowie dessen biologisch aktive Fragmenten und/oder Derivaten, insbesondere amidierten, acetylierten, sulfatierten, phosphorylierten und/oder glykosylierten Derivaten.
18. Nucleinsäure, dadurch gekennzeichnet, daß sie für Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 15 kodiert.
19. Antisensenucleotid, dadurch gekennzeichnet, daß es unter stringenten Bedingungen eine Nucleinsäuresequenz bindet, die für ein Peptid gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 15 kodiert.
20. Antikörper, dadurch gekennzeichnet, daß er an ein Peptid gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 15 bindet.
21. Inhibitor, dadurch gekennzeichnet, daß er die biologische Aktivität von Peptiden gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 15 hemmt.
22. Inhibitor, dadurch gekennzeichnet, daß er die Expression von Peptiden gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 15 hemmt.
23. Verwendung von Peptiden gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 15, Komplexen gemäß Anspruch 17, Nucleinsäuren gemäß Anspruch 18, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung der Unterexpression von Insulin-like Growth Factor Binding Proteinen.
24. Verwendung von Antisensenucleotiden gemäß Anspruch 19, Antikörpern gemäß Anspruch 20, Inhibitoren gemäß Anspruch 21 und/oder Inhibitoren gemäß Anspruch 22 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung der Überexpression Insulin-like Growth Factor Binding Proteinen.
25. Arzneimittel enthaltend Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 15, Komplexe gemäß Anspruch 17, Nucleinsäuren gemäß Anspruch 18, Antisen-

senucleotiden gemäß Anspruch 19, Antikörpern gemäß Anspruch 20, Inhibitoren gemäß Anspruch 21 und/oder Inhibitoren gemäß Anspruch 22 in einer pharmazeutisch üblichen Darreichungsform zur oralen, intravenösen, intramuskulären, intracutanen, intrathekalen Anwendung oder als Acrosol zur transpulmonalen Applikation.

26. Verwendung eines Arzneimittels gemäß Anspruch 25 zur Behandlung von Muskel-schwund, Osteroporose, Diabetes, amyloidaler lateraler Sklerose, peripheren und zentralen Neuropathien, entzündlichen Prozessen, gestörten Entzündungsreaktionen, Tumor-erkrankungen, entzündlichen und neoplastischen Erkrankungen, Wachstumsstörung, Erkrankung der Muskulatur, Erkrankung des Knochenapparates und/oder zur Wund- und Knochenheilung. ..
27. Verwendung der Nucleinsäure gemäß Anspruch 18 und/oder der Antisensenucleotide gemäß Anspruch 19 zur Herstellung eines Medikamentes zur Behandlung somatischer oder nicht-somatischer Generkrankungen.
28. Diagnostikmittel enthaltend Peptide gemäß mindestens einem der Ansprüche 1 bis 15, Komplexe gemäß Anspruch 17, Nucleinsäuren gemäß Anspruch 18, Antisensenucleotide gemäß Anspruch 19, Antikörpern gemäß Anspruch 20, Inhibitoren gemäß Anspruch 21 und/oder Inhibitoren gemäß Anspruch 22 sowie weitere Hilfsmittel.
29. Verwendung der Diagnostikmittel gemäß Anspruch 28 zur Diagnose von Funktionsstörungen des Knochens, der Muskeln, des Nervensystems, der Lymphorgane, des Magen-Darm-Traktes, des Immunsystems, von Diabetes, inflammatorischen und neoplastischen Prozessen sowie als Marker bei Krebs.

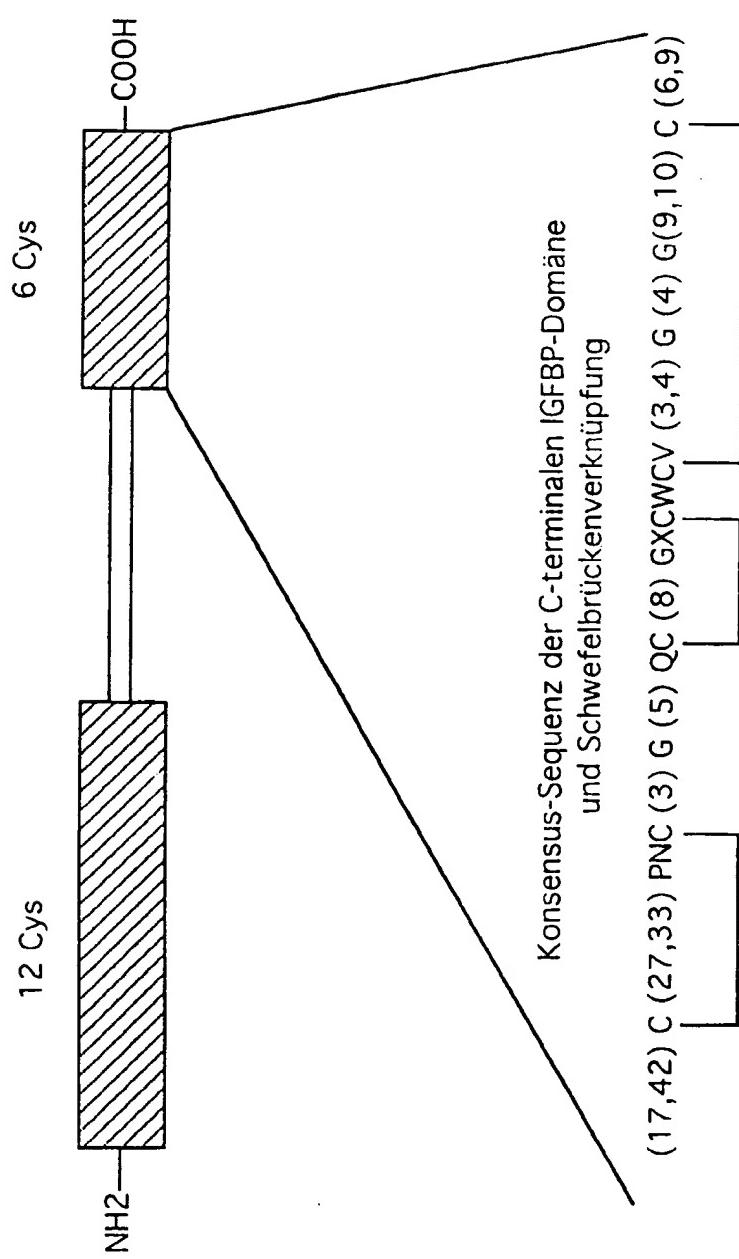
- 1 / 9 -

i bp1n	1	APSEEDHSILDAISTYDGEKDLHUTHIKKUKEPCRIELVYVUEESLAK	—	RQETTS6	E EISKFYLPNCKHG
i bp2	1	DKGDKHHHLGLEEPKKLDPPLQDQELDQIERTISTMLPDEERGPLEH	—	PSLHPNCDKHG	
i bp3	1	GHAKDSQFHKUDYESQSTDTQHFSSESSESKRETEYGPCCRREHEOTLNHHLKF	—	LNULSPLAGUH	PNCDKKG
i bp4	1	KUNGDFPREDARAPUPQGSCEOSELHBALETLAA	—	SQSNTH_EDLY	IPDPNCDRNG
i bp5	1	LTQSKFUGGAEENIAHPRIISAPENHQEQESEQGPCCRBNNEASLQELKA	—	SPRNWPAARAVYL	PNCDBKG
i bp6	1	PQAGTARPQDQUNRHDQQRNPKGTSTTPSOPHNSAGUQDITENGCRBHQLDSDUQQLQT	—	EUYVIGA_QTLYU	PNCDHKG
i bp1n	70	FYHSRQOCTSMQGEAGLCECVYYPUNGKARIPG_SPEIRGDPMHQIYFNUQH	—		
i bp2	64	LYNLKQCKMSLNQGAFCECUCVHPNFGKLQG_AFTIRGDPECMIFYHEUQFARGUHTQRNQ	—		
i bp3	68	FYKIKQCRPSKCRKHSFCHFCUDKQ_GQPLPQYTTKGEDUHCYHSNQSK	—		
i bp4	53	NFHPKQCHPQALDQQRKCHCUDRKTCGUKLPG_GLFPKDFELCHIQLADSFR	—		
i bp5	65	FYKBKOCKPSBQCRKIGICHCUVKY_GMKLPG_NEYUOGDFQCHTFDSHUE	—		
i bp6	74	FYRIZRQCRSSQQQRAGPCEUDRN_GKSLLPG_SPDGNQSSSSCPJUGSSG	—		

Figur 1

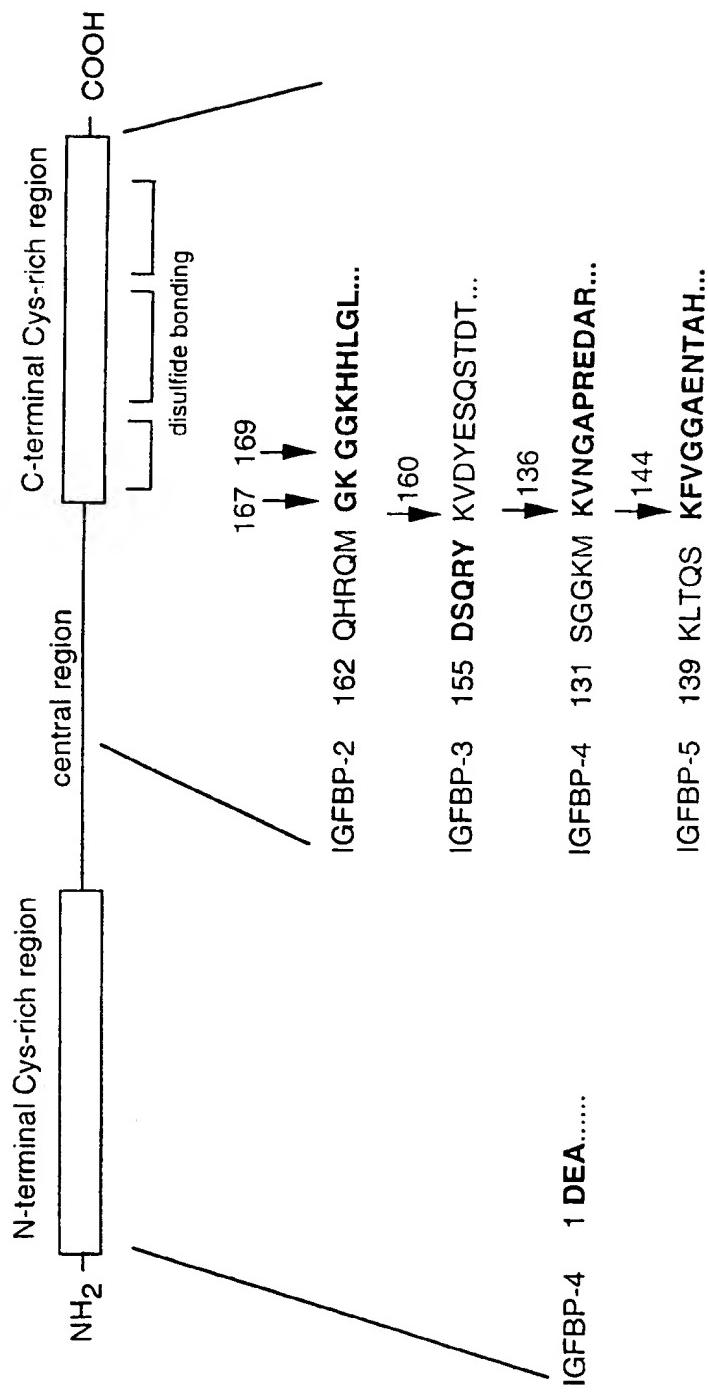
- 2 / 9 -

Schematische Grundstruktur der IGFBP's
IGFBP 1 - 6
insges. jew. 250 - 350 Aminosäuren

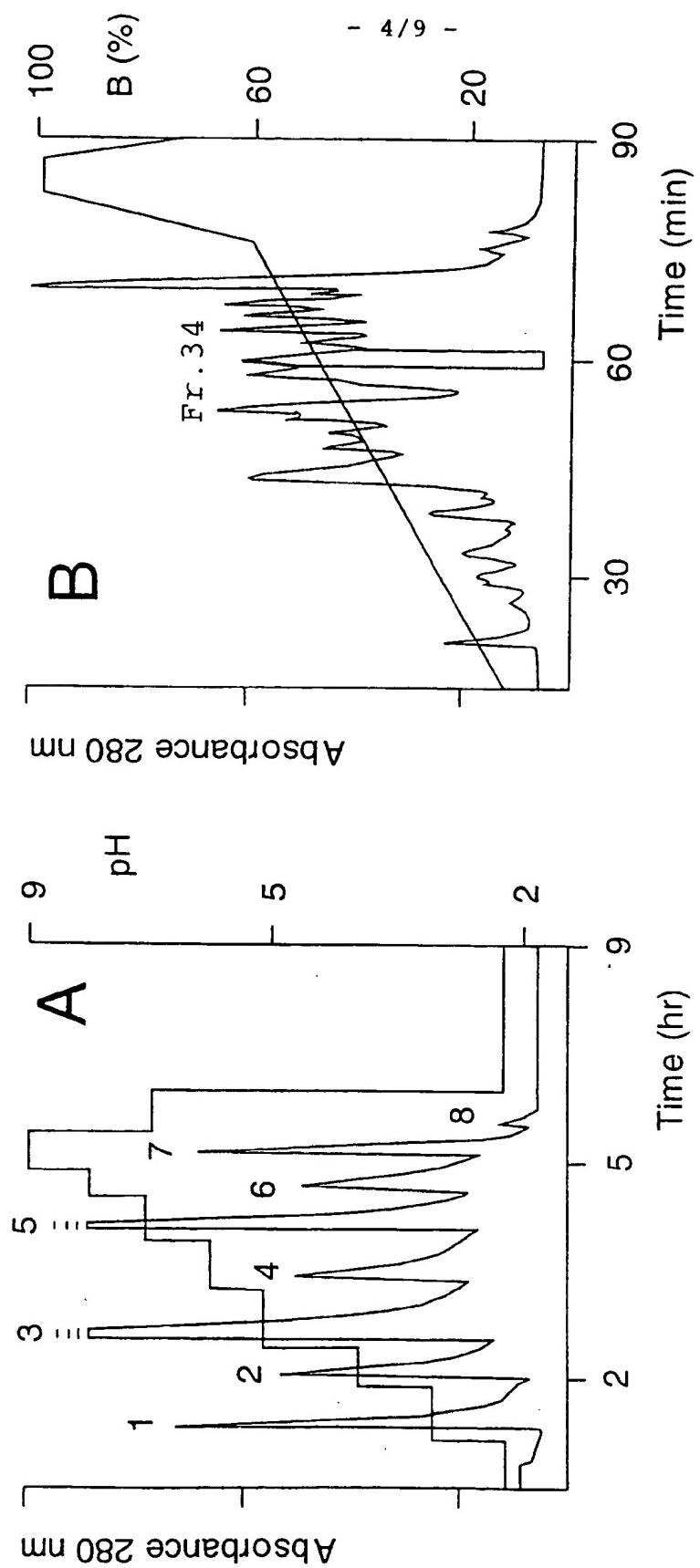


Figur 2

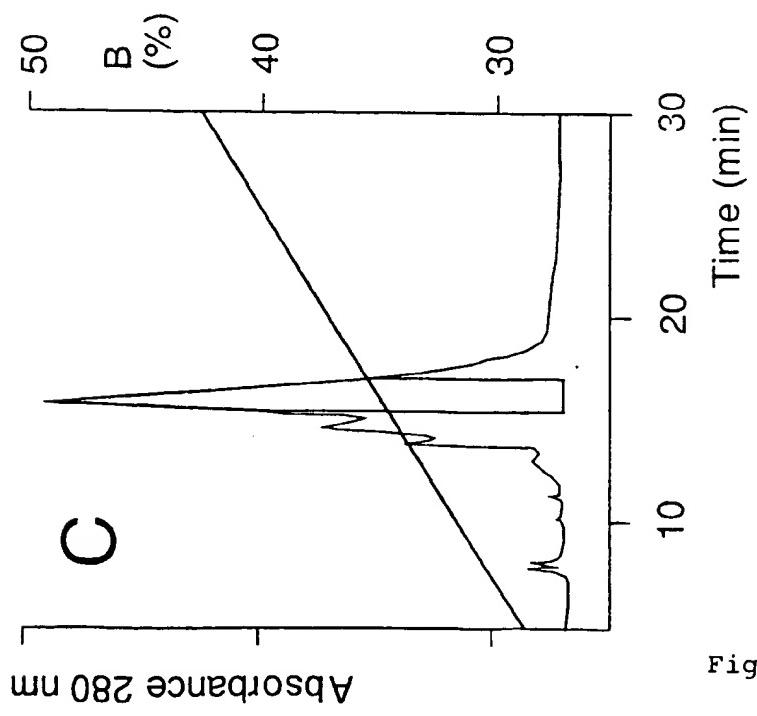
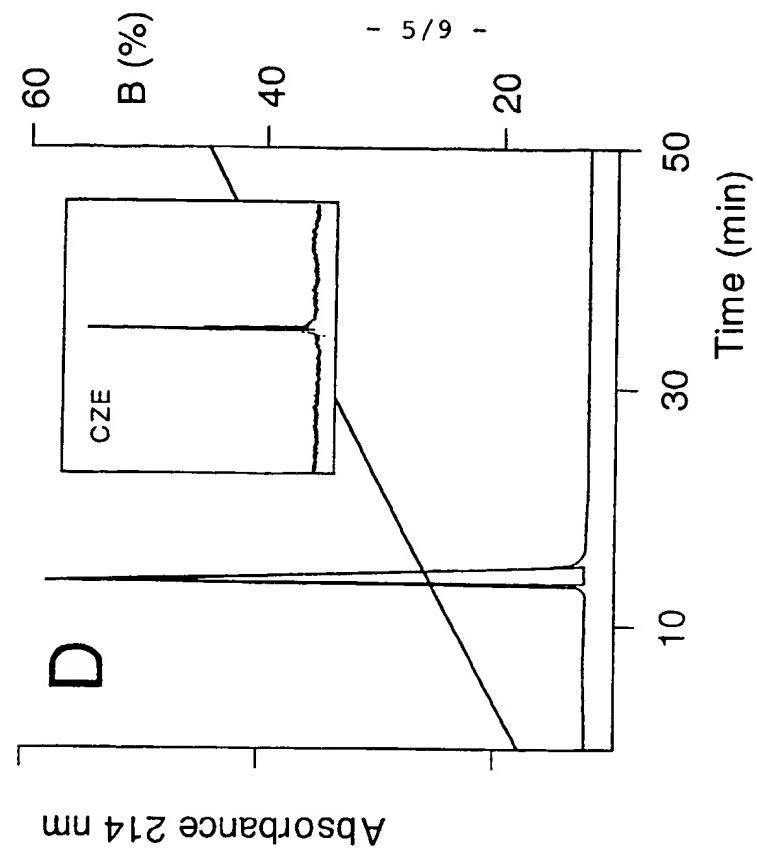
- 3 / 9 -



Figur 3

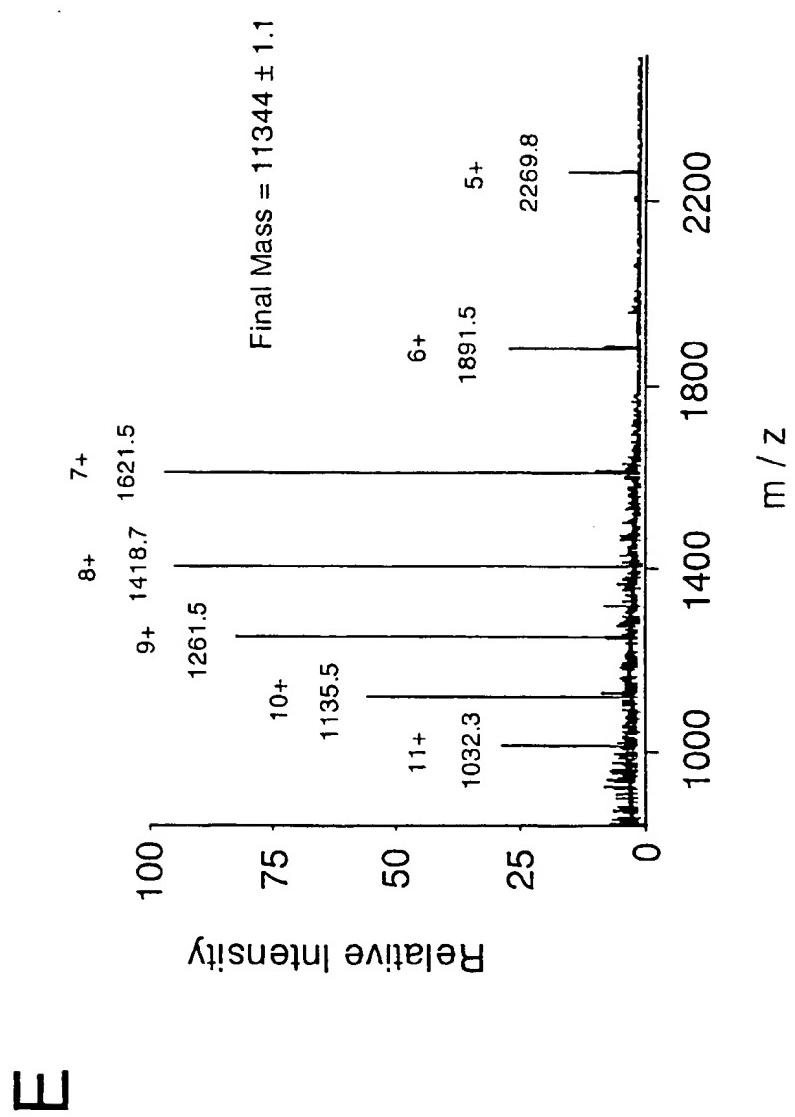


Figur 4a



Figur 4b

- 6 / 9 -

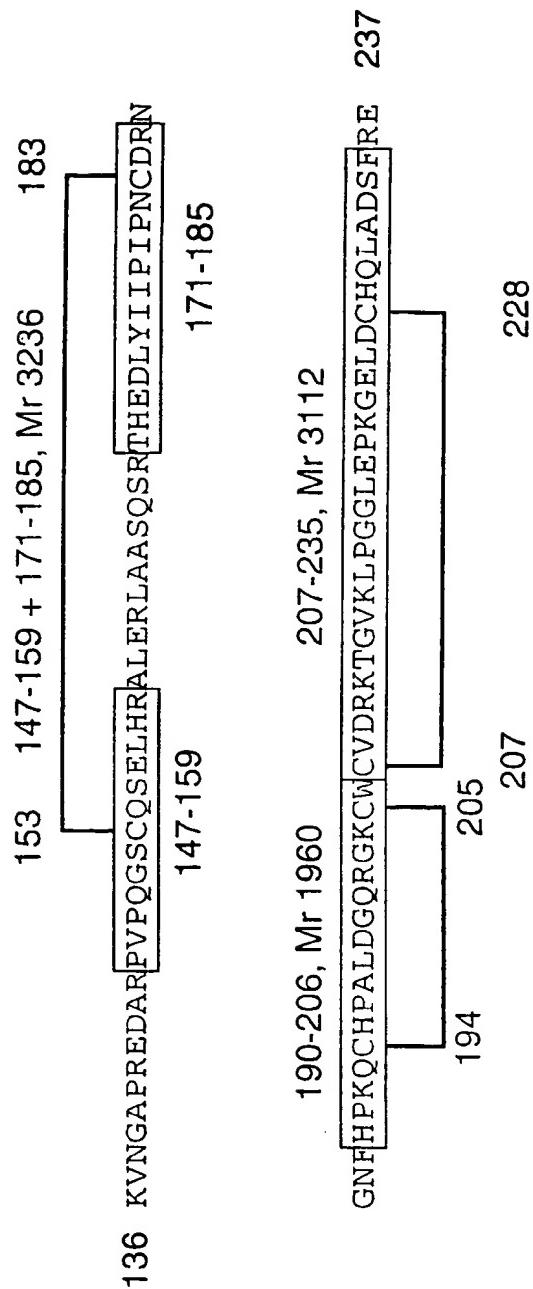


136-KVNGAPREDARPVPQGSXQSELHRA

DRSTSGGKMKVNGAPREDARPVPQGSQQSELHRA

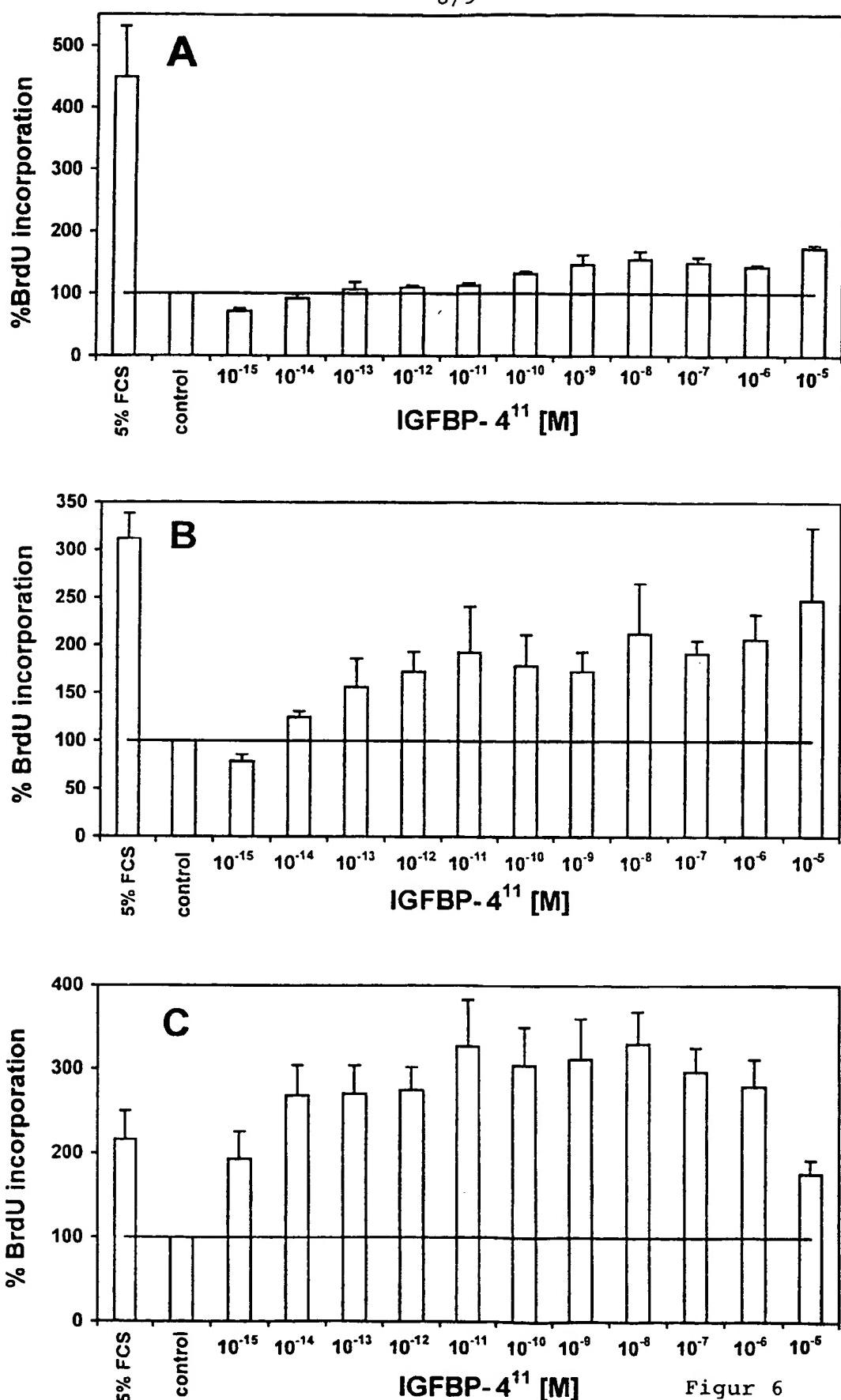
Figur 4c

- 7 / 9 -



Figur 5

- 8 / 9 -



Figur 6

- 9 / 9 -

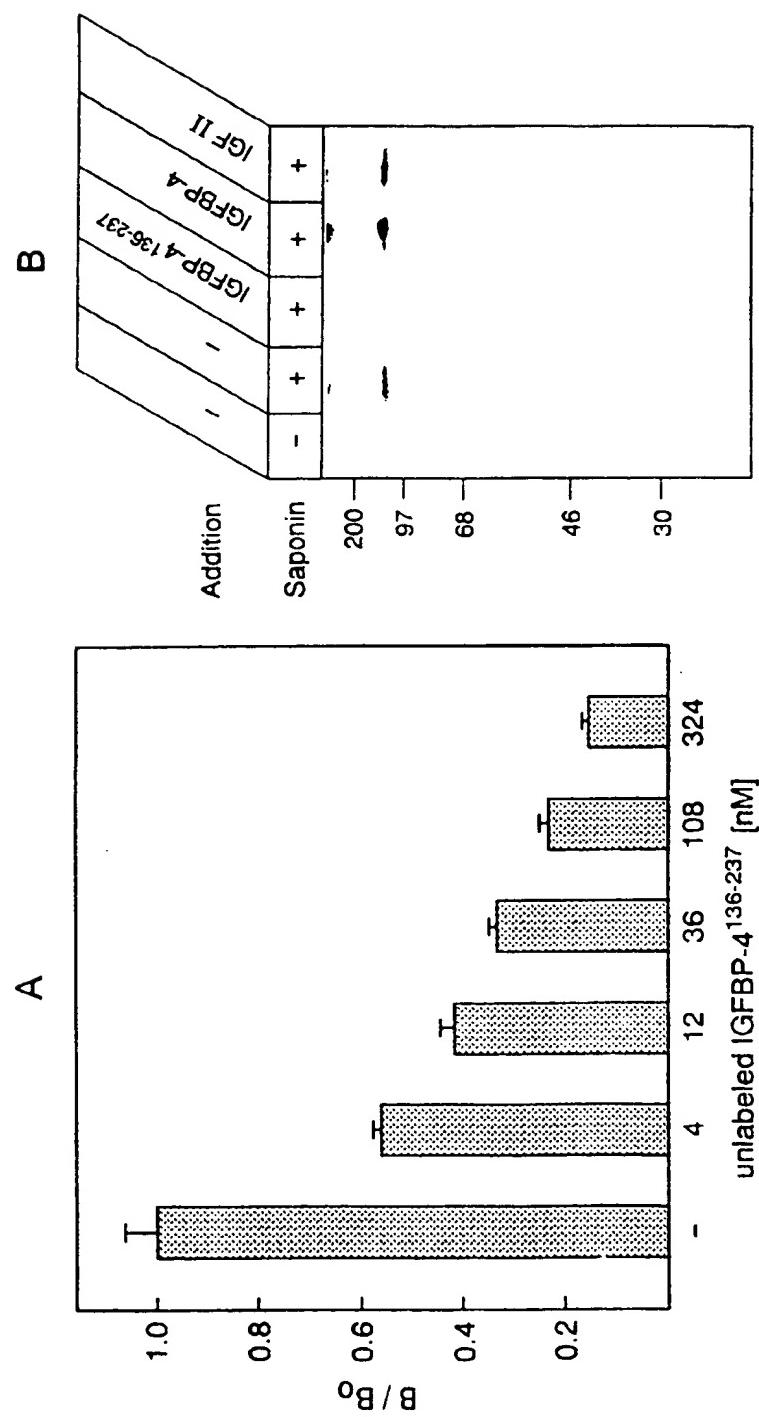


Figure 7

SEQUENZPROTOKOLL

(1) ALLGEMEINE ANGABEN:

(i) ANMELDER:

- (A) NAME: Prof. Dr. Wolf-Georg Forssmann
(B) STRASSE: Feodor-Lynen-Str. 31
(C) ORT: Hannover
(E) LAND: Deutschland
(F) POSTLEITZAHL: 30625

(ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: Insulin-like Growth Factor Binding Protein

Fragmente und ihre Verwendung

(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 50

(iv) COMPUTER-LESBARE FASSUNG:

- (A) DATENTRÄGER: Floppy disk
 - (B) COMPUTER: IBM PC compatible
 - (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
 - (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPA)

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 34 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

Ala Pro Ser Glu Glu Asp His Ser Ile Leu Trp Asp Ala Ile Ser Thr
1 5 10 15

Tyr Asp Gly Ser Lys Ala Leu His Val Thr Asn Ile Lys Lys Trp Lys
20 25 30

Glu Pro

(2) ANGABEN ZU SEO ID NO: 2:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 22 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

Pro Pro Ala Arg Thr Pro
20

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 24 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

Gly	Lys	Gly	Gly	Lys	His	His	Leu	Gly	Leu	Glu	Glu	Pro	Lys	Lys	Leu
1				5					10				15		
Arg	Pro	Pro	Pro	Ala	Arg	Thr	Pro								
				20											

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 4:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 35 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

Gly	His	Ala	Lys	Asp	Ser	Gln	Arg	Tyr	Lys	Val	Asp	Tyr	Glu	Ser	Gln
1				5					10				15		
Ser	Thr	Asp	Thr	Gln	Asn	Phe	Ser	Ser	Glu	Ser	Lys	Arg	Glu	Thr	Glu
		20						25				30			
Tyr	Gly	Pro													
		35													

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 5:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 17 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

Lys	Val	Asn	Gly	Ala	Pro	Arg	Glu	Asp	Ala	Arg	Pro	Val	Pro	Gln	Gly
1				5					10				15		
Ser															

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 6:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 32 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

Leu Thr Gln Ser Lys Phe Val Gly Gly Ala Glu Asn Thr Ala His Pro
1 5 10 15

Arg Ile Ile Ser Ala Pro Glu Met Arg Gln Glu Ser Glu Gln Gly Pro
20 25 30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 7:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 41 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

Pro Gln Ala Gly Thr Ala Arg Pro Gln Asp Val Asn Arg Arg Asp Gln
1 5 10 15

Gln Arg Asn Pro Gly Thr Ser Thr Thr Pro Ser Gln Pro Asn Ser Ala
20 25 30

Gly Val Gln Asp Thr Glu Met Gly Pro
35 40

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 8:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 27 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

Arg Ile Glu Leu Tyr Arg Val Val Glu Ser Leu Ala Lys Ala Gln Glu
1 5 10 15

Thr Ser Gly Glu Glu Ile Ser Lys Phe Tyr Leu
20 25

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 9:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 31 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:

Gln Gln Glu Leu Asp Gln Val Leu Glu Arg Ile Ser Thr Met Arg Leu

1	5	10	15											
Pro	Asp	Glu	Arg	Gly	Pro	Leu	Glu	His	Leu	Tyr	Ser	Leu	His	Ile
					20				25					30

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 10:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 24 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 10:

Arg	Arg	Glu	Met	Glu	Asp	Thr	Leu	Asn	His	Leu	Lys	Phe	Leu	Asn	Val
1			5					10						15	
Leu	Ser	Pro	Arg	Gly	Val		His	Ile							
						20									

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 11:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 27 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 11:

Gln	Ser	Glu	Leu	His	Arg	Ala	Leu	Glu	Arg	Leu	Ala	Ala	Ser	Gln	Ser
1			5					10					15		
Arg	Thr	His	Glu	Asp	Leu	Tyr	Ile	Ile	Pro	Ile					
			20				25								

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 12:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 24 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 12:

Arg	Arg	His	Met	Glu	Ala	Ser	Leu	Gln	Glu	Leu	Lys	Ala	Ser	Pro	Arg
1			5					10					15		
Met	Val	Pro	Arg	Ala	Val	Tyr	Leu								
			20												

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 13:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 24 Aminosäuren

- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 13:

Arg Arg His Leu Asp Ser Val Leu Gln Gln Leu Gln Thr Glu Val Tyr
1 5 10 15
Arg Gly Ala Gln Thr Leu Tyr Val
20

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 14:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 14:

Asn Lys Asn Gly Phe Tyr His Ser Arg
1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 15:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 15:

Asp Lys His Gly Leu Tyr Asn Leu Lys
1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 16:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 16:

Asp Lys Lys Gly Phe Tyr Lys Lys Lys
1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 17:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 9 Aminosäuren

- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 17:

Asp Arg Asn Gly Asn Phe His Pro Lys
1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 18:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 18:

Asp Arg Lys Gly Phe Tyr Lys Arg Lys
1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 19:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 19:

Asp His Arg Gly Phe Tyr Arg Lys Arg
1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 20:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 10 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 20:

Glu Thr Ser Met Asp Gly Glu Ala Gly Leu
1 5 10

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 21:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 10 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 21:

Lys Met Ser Leu Asn Gly Gln Arg Gly Glu
1 5 10

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 22:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 10 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 22:

Arg Pro Ser Lys Gly Arg Lys Arg Gly Phe
1 5 10

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 23:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 10 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 23:

His Pro Ala Leu Asp Gly Gln Arg Gly Lys
1 5 10

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 24:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 10 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 24:

Lys Pro Ser Arg Gly Arg Lys Arg Gly Ile
1 5 10

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 25:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 10 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 25:

Arg Ser Ser Gln Gly Gln Arg Arg Gly Pro
1 5 10

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 26:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 19 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 26:

Tyr Pro Trp Asn Gly Lys Arg Ile Pro Gly Ser Pro Glu Ile Arg Gly
1 5 10 15
Asp Pro Asn

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 27:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 19 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 27:

Asn Pro Asn Thr Gly Lys Leu Ile Gln Gly Ala Pro Thr Ile Arg Gly
1 5 10 15
Asp Pro Glu

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 28:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 19 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 28:

Asp Lys Tyr Gly Gln Pro Leu Pro Gly Tyr Thr Thr Lys Gly Lys Glu
1 5 10 15
Asp Val His

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 29:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 19 Aminosäuren

- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 29:

Asp Arg Lys Thr Gly Val Lys Leu Pro Gly Gly Leu Glu Pro Lys Gly
1 5 10 15
Glu Leu Asp

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 30:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 18 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 30:

Asp Lys Tyr Gly Met Lys Leu Pro Gly Met Glu Tyr Val Asp Gly Asp
1 5 10 15
Phe Gln

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 31:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 18 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 31:

Asp Arg Met Gly Lys Ser Leu Pro Gly Ser Pro Asp Gly Asn Gly Ser
1 5 10 15
Ser Ser

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 32:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 8 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 32:

Gln Ile Tyr Phe Asn Val Gln Asn

1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 33:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 19 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 33:

His Leu Phe Tyr Asn Glu Gln Gln Glu Ala Arg Gly Val His Thr Gln
1 5 10 15
Arg Met Gln

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 34:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 34:

His Leu Phe Tyr Asn Glu Gln Gln Glu
1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 35:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 6 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 35:

Tyr Ser Met Gln Ser Lys
1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 36:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
(B) ART: Aminosäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 36:

His Gln Leu Ala Asp Ser Phe Arg Glu

1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 37:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 9 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 37:

His Thr Phe Asp Ser Ser Asn Val Glu
1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 38:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 6 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 38:

Pro Thr Gly Ser Ser Gly
1 5

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 39:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 118 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 39:

Ala Pro Ser Glu Glu Asp His Ser Ile Leu Trp Asp Ala Ile Ser Thr
1 5 10 15

Tyr Asp Gly Ser Lys Ala Leu His Val Thr Asn Ile Lys Lys Trp Lys
20 25 30

Glu Pro Cys Arg Ile Glu Leu Tyr Arg Val Val Glu Ser Leu Ala Lys
35 40 45

Ala Gln Glu Thr Ser Gly Glu Glu Ile Ser Lys Phe Tyr Leu Pro Asn
50 55 60

Cys Asn Lys Asn Gly Phe Tyr His Ser Arg Gln Cys Glu Thr Ser Met
65 70 75 80

Asp Gly Glu Ala Gly Leu Cys Trp Cys Val Tyr Pro Trp Asn Gly Lys
85 90 95

Arg Ile Pro Gly Ser Pro Glu Ile Arg Gly Asp Pro Asn Cys Gln Ile

100
Tyr Phe Asn Val Gln Asn
115

105

110

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 40:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 123 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 40:

Gly	Lys	Gly	Gly	Lys	His	His	Leu	Gly	Leu	Glu	Glu	Pro	Lys	Lys	Leu
1					5				10				15		
Arg	Pro	Pro	Pro	Ala	Arg	Thr	Pro	Cys	Gln	Gln	Glu	Leu	Asp	Gln	Val
	20					25						30			
Leu	Glu	Arg	Ile	Ser	Thr	Met	Arg	Leu	Pro	Asp	Glu	Arg	Gly	Pro	Leu
	35					40						45			
Glu	His	Leu	Tyr	Ser	Leu	His	Ile	Pro	Asn	Cys	Asp	Lys	His	Gly	Leu
	50					55						60			
Tyr	Asn	Leu	Lys	Gln	Cys	Lys	Met	Ser	Leu	Asn	Gly	Gln	Arg	Gly	Glu
	65					70				75		80			
Cys	Trp	Cys	Val	Asn	Pro	Asn	Thr	Gly	Lys	Leu	Ile	Gln	Gly	Ala	Pro
	85						90					95			
Thr	Ile	Arg	Gly	Asp	Pro	Glu	Cys	His	Leu	Phe	Tyr	Asn	Glu	Gln	Gln
	100						105					110			
Glu	Ala	Arg	Gly	Val	His	Thr	Gln	Arg	Met	Gln					
	115						120								

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 41:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 114 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 41:

Gly	His	Ala	Lys	Asp	Ser	Gln	Arg	Tyr	Lys	Val	Asp	Tyr	Glu	Ser	Gln
1					5				10			15			
Ser	Thr	Asp	Thr	Gln	Asn	Phe	Ser	Ser	Glu	Ser	Lys	Arg	Glu	Thr	Glu
		20					25					30			
Tyr	Gly	Pro	Cys	Arg	Arg	Glu	Met	Glu	Asp	Thr	Leu	Asn	His	Leu	Lys
	35					40						45			
Phe	Leu	Asn	Val	Leu	Ser	Pro	Arg	Gly	Val	His	Ile	Pro	Asn	Cys	Asp

50	55	60
Lys Lys Gly Phe Tyr Lys Lys Gln Cys Arg Pro Ser Lys Gly Arg		
65	70	75
Lys Arg Gly Phe Cys Trp Cys Val Asp Lys Tyr Gly Gln Pro Leu Pro		
85	90	95
Gly Tyr Thr Thr Lys Gly Lys Glu Asp Val His Cys Tyr Ser Met Gln		
100	105	110
Ser Lys		

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 42:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
- (A) LÄNGE: 102 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 42:

Lys Val Asn Gly Ala Pro Arg Glu Asp Ala Arg Pro Val Pro Gln Gly			
1	5	10	15
Ser Cys Gln Ser Glu Leu His Arg Ala Leu Glu Arg Leu Ala Ala Ser			
20	25	30	
Gln Ser Arg Thr His Glu Asp Leu Tyr Ile Ile Pro Ile Pro Asn Cys			
35	40	45	
Asp Arg Asn Gly Asn Phe His Pro Lys Gln Cys His Pro Ala Leu Asp			
50	55	60	
Gly Gln Arg Gly Lys Cys Trp Cys Val Asp Arg Lys Thr Gly Val Lys			
65	70	75	80
Leu Pro Gly Gly Leu Glu Pro Lys Gly Glu Leu Asp Cys His Gln Leu			
85	90	95	
Ala Asp Ser Phe Arg Glu			
100			

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 43:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
- (A) LÄNGE: 113 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 43:

Leu Thr Gln Ser Lys Phe Val Gly Gly Ala Glu Asn Thr Ala His Pro			
1	5	10	15
Arg Ile Ile Ser Ala Pro Glu Met Arg Gln Glu Ser Glu Gln Gly Pro			

20	25	30
Cys Arg Arg His Met Glu Ala Ser Leu Gln Glu Leu Lys Ala Ser Pro		
35	40	45
Arg Met Val Pro Arg Ala Val Tyr Leu Pro Asn Cys Asp Arg Lys Gly		
50	55	60
Phe Tyr Lys Arg Lys Gln Cys Lys Pro Ser Arg Gly Arg Lys Arg Gly		
65	70	75
Ile Cys Trp Cys Val Asp Lys Tyr Gly Met Lys Leu Pro Gly Met Glu		
85	90	95
Tyr Val Asp Gly Asp Phe Gln Cys His Thr Phe Asp Ser Ser Asn Val		
100	105	110
Glu		

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 44:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 119 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 44:

Pro Gln Ala Gly Thr Ala Arg Pro Gln Asp Val Asn Arg Arg Asp Gln		
1	5	10
		15
Gln Arg Asn Pro Gly Thr Ser Thr Thr Pro Ser Gln Pro Asn Ser Ala		
20	25	30
Gly Val Gln Asp Thr Glu Met Gly Pro Cys Arg Arg His Leu Asp Ser		
35	40	45
Val Leu Gln Gln Leu Gln Thr Glu Val Tyr Arg Gly Ala Gln Thr Leu		
50	55	60
Tyr Val Pro Asn Cys Asp His Arg Gly Phe Tyr Arg Lys Arg Gln Cys		
65	70	75
		80
Arg Ser Ser Gln Gly Gln Arg Arg Gly Pro Cys Trp Cys Val Asp Arg		
85	90	95
Met Gly Lys Ser Leu Pro Gly Ser Pro Asp Gly Asn Gly Ser Ser Ser		
100	105	110
Cys Pro Thr Gly Ser Ser Gly		
115		

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 45:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 121 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 45:

Gly Gly Lys His His Leu Gly Leu Glu Glu Pro Lys Lys Leu Arg Pro
1 5 10 15

Pro Pro Ala Arg Thr Pro Cys Gln Gln Glu Leu Asp Gln Val Leu Glu
20 25 30

Arg Ile Ser Thr Met Arg Leu Pro Asp Glu Arg Gly Pro Leu Glu His
35 40 45

Leu Tyr Ser Leu His Ile Pro Asn Cys Asp Lys His Gly Leu Tyr Asn
50 55 60

Leu Lys Gln Cys Lys Met Ser Leu Asn Gly Gln Arg Gly Glu Cys Trp
65 70 75 80

Cys Val Asn Pro Asn Thr Gly Lys Leu Ile Gln Gly Ala Pro Thr Ile
85 90 95

Arg Gly Asp Pro Glu Cys His Leu Phe Tyr Asn Glu Gln Gln Glu Ala
 100 105 110

Arg Gly Val His Thr Gln Arg Met Gln
115 120

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 46:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 105 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 46:

Lys Val Asp Tyr Glu Ser Gln Ser Thr Asp Thr Gln Asn Phe Ser Ser
1 5 10 15

Glu Ser Lys Arg Glu Thr Glu Tyr Gly Pro Cys Arg Arg Glu Met Glu
20 25 30

Asp Thr Leu Asn His Leu Lys Phe Leu Asn Val Leu Ser Pro Arg Gly
35 40 45

Val His Ile Pro Asn Cys Asp Lys Lys Gly Phe Tyr Lys Lys Lys Gln
 50 55 60

Cys Arg Pro Ser Lys Gly Arg Lys Arg Gly Phe Cys Trp Cys Val Asp
 65 70 75 80

Lys Tyr Gly Gln Pro Leu Pro Gly Tyr Thr Thr Lys Gly Lys Glu Asp
85 90 95

Val His Cys Tyr Ser Met Gln Ser Lys
100 105

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 47:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
- (A) LÄNGE: 21 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 47:

His	Pro	Leu	His	Ser	Lys	Ile	Ile	Ile	Ile	Lys	Lys	Gly	His	Ala	Lys
1															15
Asp Ser Gln Arg Tyr															
20															

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 48:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
- (A) LÄNGE: 135 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 48:

Asp	Glu	Ala	Ile	His	Cys	Pro	Pro	Cys	Ser	Glu	Glu	Lys	Leu	Ala	Arg
1															15
Cys Arg Pro Pro Val Gly Cys Glu Glu Leu Val Arg Glu Pro Gly Cys															
20 25 30															
Gly Cys Cys Ala Thr Cys Ala Leu Gly Leu Gly Met Pro Cys Gly Val															
35 40 45															
Tyr Thr Pro Arg Cys Gly Ser Gly Leu Arg Cys Tyr Pro Pro Arg Gly															
50 55 60															
Val Glu Lys Pro Leu His Thr Leu Met His Gly Gln Gly Val Cys Met															
65 70 75 80															
Glu Leu Ala Glu Ile Glu Ala Ile Gln Glu Ser Leu Gln Pro Ser Asp															
85 90 95															
Lys Asp Glu Gly Asp His Pro Asn Asn Ser Phe Ser Pro Cys Ser Ala															
100 105 110															
His Asp Arg Arg Cys Leu Gln Lys His Phe Ala Lys Ile Arg Asp Arg															
115 120 125															
Ser Thr Ser Gly Gly Lys Met															
130 135															

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 49:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
- (A) LÄNGE: 109 Aminosäuren
 - (B) ART: Aminosäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 49:

Lys Phe Val Gly Gly Ala Glu Asn Thr Ala His Pro Arg Ile Ile Ser
1 5 10 15

Ala Pro Glu Met Arg Gln Glu Ser Glu Gln Gly Pro Cys Arg Arg His
20 25 30

Met Glu Ala Ser Leu Gln Glu Leu Lys Ala Ser Pro Arg Met Val Pro
35 40 45

Arg Ala Val Tyr Leu Pro Asn Cys Asp Arg Lys Gly Phe Tyr Lys Arg
50 55 60

Lys Gln Cys Lys Pro Ser Arg Gly Arg Lys Arg Gly Ile Cys Trp Cys
65 70 75 80

Val Asp Lys Tyr Gly Met Lys Leu Pro Gly Met Glu Tyr Val Asp Gly
85 90 95

Asp Phe Gln Cys His Thr Phe Asp Ser Ser Asn Val Glu
100 105

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 50:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 23 Aminosäuren
- (B) ART: Aminosäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: nicht bekannt

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Peptid

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 50:

His Thr Arg Ile Ser Glu Leu Lys Ala Glu Ala Val Lys Lys Asp Arg
1 5 10 15

Arg Lys Lys Leu Thr Gln Ser
20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 98/08405

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER					
IPC 6	C12N15/12	C12N15/11	C07K14/47	C07K14/65	C07K16/18
	A61K31/70	A61K38/17	A61K38/30	A61K39/395	G01N33/68
	C07H21/04				

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K C12N A61K G01N C07H

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>EP 0 725 080 A (SNOW BRAND MILK PROD CO LTD) 7 August 1996</p> <p>see page 3, line 50 – page 4, line 2 see SeqID. 9; see page 8, line 33 – line 37; claims; examples</p> <p>---</p> <p>-/-</p>	<p>1,4-8, 10-14, 16,18, 25-29</p>

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 May 1999

Date of mailing of the international search report

08/06/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fuhr, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/08405

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	KALUS, WENZEL ET AL: "Structure of the IGF-binding domain of the insulin-like growth factor-binding protein-5 (IGFBP-5): implications for IGF and IGF-I receptor interactions" EMBO J. (1998), 17(22), 6558-6572 CODEN: EMJODG; ISSN: 0261-4189, 16 November 1998, XP002103022 see fragment 135-246 of IGFBP-5 see page 6559, left-hand column, paragraph 2; figure 1 ---	1,3-8, 10-13
X	WO 97 30084 A (GENETICS INST) 21 August 1997 see SeqID. 6 and claim 11 see page 7, line 20 - line 30; claims; examples ---	1,4,7,8, 10-14, 16,18, 20,23, 25-29
A	WO 96 02565 A (CELTRIX PHARMA) 1 February 1996 see claims; examples ---	1,23
A	WO 96 01636 A (WERTHER GEORGE ARTHUR ;ROYAL CHILDREN S HOSPITAL RESE (AU); WRAIGH) 25 January 1996 see claims; examples -----	1,23

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 98/08405

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Remark: Although Claims Nos. 26 and 27 relate to a method for treatment of the human/animal body by therapy, the search was carried out. It was based on the cited effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/08405

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
EP 0725080	A 07-08-1996	AU 2753595	A 19-01-1996	
		FI 960706	A 12-04-1996	
		NO 960766	A 24-04-1996	
		NZ 288352	A 19-12-1997	
		CA 2169953	A 04-01-1996	
		CN 1129944	A 28-08-1996	
		WO 9600240	A 04-01-1996	

WO 9730084	A 21-08-1997	US 5843675	A 01-12-1998	
		US 5712381	A 27-01-1998	
		AU 2268697	A 02-09-1998	
		US 5891675	A 06-04-1999	

WO 9602565	A 01-02-1996	AU 3099995	A 16-02-1996	
		CA 2195474	A 01-02-1996	
		EP 0800530	A 15-10-1997	
		JP 10512235	T 24-11-1998	

WO 9601636	A 25-01-1996	AU 692278	B 04-06-1998	
		AU 2875395	A 09-02-1996	
		CA 2194366	A 25-01-1996	
		EP 0776210	A 04-06-1997	
		JP 10508286	T 18-08-1998	
		NZ 289028	A 26-01-1998	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/08405

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES					
IPK 6	C12N15/12	C12N15/11	C07K14/47	C07K14/65	C07K16/18
	A61K31/70	A61K38/17	A61K38/30	A61K39/395	G01N33/68
			C07H21/04		

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprästoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 C07K C12N A61K G01N C07H

Recherchierte aber nicht zum Mindestprästoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>EP 0 725 080 A (SNOW BRAND MILK PROD CO LTD) 7. August 1996</p> <p>siehe Seite 3, Zeile 50 - Seite 4, Zeile 2 siehe SeqID. 9; siehe Seite 8, Zeile 33 - Zeile 37; Ansprüche; Beispiele</p> <p>---</p> <p>-/-</p>	<p>1,4-8, 10-14, 16,18, 25-29</p>

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzipps oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. Mai 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

08/06/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Fuhr, C

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. nationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/08405

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	KALUS, WENZEL ET AL: "Structure of the IGF-binding domain of the insulin-like growth factor-binding protein-5 (IGFBP-5): implications for IGF and IGF-I receptor interactions" EMBO J. (1998), 17(22), 6558-6572 CODEN: EMJODG;ISSN: 0261-4189,16. November 1998, XP002103022 siehe Fragment 135-246 des IGFBP-5 siehe Seite 6559, linke Spalte, Absatz 2; Abbildung 1 ---	1,3-8, 10-13
X	WO 97 30084 A (GENETICS INST) 21. August 1997 Siehe SeqID. 6 und Anspruch 11 siehe Seite 7, Zeile 20 - Zeile 30; Ansprüche; Beispiele ---	1,4,7,8, 10-14, 16,18, 20,23, 25-29
A	WO 96 02565 A (CELTRIX PHARMA) 1. Februar 1996 siehe Ansprüche; Beispiele ---	1,23
A	WO 96 01636 A (WERTHER GEORGE ARTHUR ;ROYAL CHILDREN S HOSPITAL RESE (AU); WRAIGH) 25. Januar 1996 siehe Ansprüche; Beispiele -----	1,23

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/08405

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Bemerkung: Obwohl die Ansprüche 26 und 27 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt. Sie gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- Die Zahlung zusätzlicher Recherchengebühren erfolgte ohne Widerspruch.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/08405

Im Recherchenbericht angetführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie			Datum der Veröffentlichung
EP 0725080	A 07-08-1996	AU FI NO NZ CA CN WO	2753595 A 960706 A 960766 A 288352 A 2169953 A 1129944 A 9600240 A		19-01-1996 12-04-1996 24-04-1996 19-12-1997 04-01-1996 28-08-1996 04-01-1996

WO 9730084	A 21-08-1997	US US AU US	5843675 A 5712381 A 2268697 A 5891675 A		01-12-1998 27-01-1998 02-09-1998 06-04-1999

WO 9602565	A 01-02-1996	AU CA EP JP	3099995 A 2195474 A 0800530 A 10512235 T		16-02-1996 01-02-1996 15-10-1997 24-11-1998

WO 9601636	A 25-01-1996	AU AU CA EP JP NZ	692278 B 2875395 A 2194366 A 0776210 A 10508286 T 289028 A		04-06-1998 09-02-1996 25-01-1996 04-06-1997 18-08-1998 26-01-1998
